

# PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

*Unter Mitwirkung von*

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley,  
Keswick-Cumberland / Prof. Dr. T. Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler,  
Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjér, Wageningen  
Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

*herausgegeben von den Professoren*

**E. Gäumann**  
Zürich

**M. Klinkowski**  
Aschersleben

**H. Richter**  
Berlin-Dahlem



Mit 46 Abbildungen

1956

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

*Phytopath. Z. Bd. 27 Heft 3 S. 237—352 Berlin 1956*



## I N H A L T

### Abhandlungen

MÜLLER, K. O., Einige einfache Versuche zum Nachweis von Phytoalexinen. Mit 5 Abb. ....	237
BACHMANN, E., Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von pflanzlichen Protoplasten. Mit 14 Abb. ....	255
BEHR, L., Der Falsche Mehltau am Mohn ( <i>Peronospora arborescens</i> [Berk.] de By.). Untersuchungen zur Biologie des Erregers. Mit 23 Abb. ....	289
KOVÁCS, A. und SZEÖKE, É., Die phytopathologische Bedeutung der kutikulären Exkretion. Mit 4 Abb. ....	335
Besprechungen .....	350

**Manuskripte:** In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen“ sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen“ erscheinen nur in deutscher Sprache.

**Herausgeber:** Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen“ entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen“ unmittelbar an Prof. Richter, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Richter vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

**Honorierung:** Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen“ beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

**Sonderdrucke:** Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

**Erscheinungsweise:** Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

**Bezugsbedingungen:** Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 23,60 DM

Einzelpreis 26,— DM



## Einige einfache Versuche zum Nachweis von Phytoalexinen<sup>1)</sup>

Von

K. O. MÜLLER

Mit 5 Abbildungen

### Einleitung

Die Fähigkeit höherer Pflanzen, einen Parasiten mit einer auf die Infektionsstelle beschränkten Nekrose „abzuriegeln“ (Widerstandsfähigkeit durch nekrogene Abortion), ist eine Erscheinung, die heute jedem Phytopathologen bekannt ist. Über die zytomorphologischen Änderungen, welche sich im Laufe einer solchen „Abwehrnekrose“ bei Wirt und Parasit abspielen, sind wir ausgezeichnet unterrichtet. Auch wissen wir, daß die Intensität, mit der diese Abwehrreaktion zum Ablauf gelangt, primär von der genetischen Konstitution der Wirtspflanze wie des Parasiten bestimmt wird; und ebenso, daß der Verlauf der Reaktion und somit auch das klinische Ergebnis dem modifizierenden Einfluß der Außenfaktoren unterworfen ist. Hingegen sind wir kaum über die Gründe unterrichtet, die den Parasiten veranlassen, in dem nekrotischen Gewebe nach anfänglich normaler Entwicklung sein Wachstum wieder einzustellen.

Im Rahmen dieses Artikels würde es zu weit führen, kritisch auf die zahlreichen Erklärungsversuche einzugehen, die uns in der Vergangenheit dem Verständnis des Mechanismus dieser Reaktion näherbringen sollten. Wegen Mangels an experimentellen Befunden gingen die meisten nicht über rein hypothetische Annahmen hinaus. In letzter Zeit mehrte sich jedoch die Zahl derjenigen Autoren, die den nekrotischen Zerfall des affizierten Wirtsgewebes im Sinne einer Abwehrreaktion *sensu stricto* interpretierten [vgl. GÄUMANN (2)]. Auch DIMOND and WAGGONER (1) schließen bei der Definition der Vivotoxine diese Möglichkeit mit ein.

Der erste ernsthafte Versuch, auf experimenteller Grundlage den Mechanismus der Abwehrnekrose aufzuhellen, wurde von MÜLLER und seinen Mitarbeitern unternommen. Die von ihm entwickelte Phytoalexin-Theorie (4, 5) stützte sich einmal auf vergleichend-zytophysiologische Untersuchungen an Knollen von *Phytophthora*-anfälligen und -widerstandsfähigen

1) Meinem Lehrer, E. G. PRINGSHEIM, zum 75. Geburtstag gewidmet.

Kartoffelsorten, zum anderen auf die Ergebnisse von planmäßigen Infektionsversuchen, die u. a. zeigten, daß die von einem avirulenten Stamm des Parasiten ausgelöste Nekrose auch Hemmung eines virulenten Stammes zur Folge hat. Als wesentliches Moment für das klinische Ergebnis der Reaktion wurde die Geschwindigkeit, mit der die Nekrose zum Ablauf gelangt, herausgestellt. Je größer die Reaktionsgeschwindigkeit, desto eher wird der Parasit zum Halten gebracht. Verläuft die Reaktion zu langsam, dann breitet sich der Parasit ungehemmt im Wirtsgewebe aus. Aus diesen und anderen Befunden wurde geschlossen:

1. Das vorzeitige Absterben des Parasiten ist nicht durch ein schon vor der Infektion in der Knolle vorhandenes Prinzip und auch nicht durch das Fehlen irgendeines für die normale Entwicklung des Pilzes notwendigen Stoffes bedingt, sondern durch eine Zustandsänderung<sup>1)</sup> bei den mit dem Parasiten in Kontakt gelangten Wirtszellen.

2. Die Abwehrreaktion ist an den Lebenszustand der Zellen gebunden.

3. Das hemmende Prinzip muß stofflicher Natur sein. Es ist als das Endprodukt einer durch den Parasiten ausgelösten Nekrobiose aufzufassen (5).

Für den postulierten „Abwehrstoff“ wurde die Bezeichnung „*Phytoalexin*“ (abgekürzt: PA) gewählt. Definitionsgemäß bezieht sich dieser Ausdruck lediglich auf die Funktion des oder der hypothetischen Abwehrstoffe. Er schließt keine Aussage über seine chemische Struktur ein. Da sich herausstellte, daß die nekrotischen Veränderungen des Wirtsgewebes auch die Hemmung anderer pilzlicher Organismen zur Folge haben, wurde dem Kartoffel/Phytophthora-PA eine nur geringe Spezifität zuerkannt.

Das war der Stand unserer Kenntnisse im Jahre 1940. Bald hernach (1942) konnte, entsprechend der Theorie, die postinfektionelle Aktivierung eines fungiziden Stoffes in den nekrotischen Geweben nachgewiesen werden, und zwar in der Weise, daß Diffusate von parasitierten Gewebestückchen verschiedenen Nekrosegrades auf ihre toxische Aktivität gegenüber dem Parasiten geprüft wurden. Von einer Veröffentlichung der Ergebnisse wurde damals abgesehen, hauptsächlich weil sie für eine schlüssige Beweisführung nicht ausreichten. Einmal war es bei Benutzung von Knollengewebe praktisch unmöglich, sterile Diffusate zu erhalten. Mithin bestand die Möglichkeit, daß Stoffwechselprodukte von Begleitorganismen den fungiziden Effekt des postulierten Wirkstoffes „überblendeten“. Zum anderen war schlechterdings bei dieser Methode eine Verletzung des Wirtsgewebes nicht zu umgehen. Daher mußte mit der zusätzlichen Wirkung von toxischen Wundstoffen gerechnet werden<sup>2)</sup>.

<sup>1)</sup> Auch im Original gesperrt!

<sup>2)</sup> An dieser Stelle möchte ich meines Freundes E. PFANKUCH gedenken. Mit ihm habe ich seinerzeit eingehendst die Möglichkeiten einer weiteren experimentellen Unterbauung der Phytoalexin-Theorie von der chemischen Seite her diskutiert. Eine gemeinsame Fortführung der Arbeiten war für die Zeit nach dem Kriege geplant. Leider ist dieser Plan nicht zur Ausführung gelangt. E. PFANKUCH kam in den letzten Tagen des Krieges ums Leben.



Diese Schwierigkeiten konnten bei einem anderen Objekt, den Samenmulden der Früchte von Buschbohnen (*Phaseolus vulgaris*), erfolgreich umgangen werden. Die Epidermen der Samenmulden lassen sich in weitestgehend sterilem Zustande für Infektionsversuche herrichten und, ohne daß sie verwundet zu werden brauchen, mit *Phytophthora infestans* infizieren. Wie bereits berichtet (3), reagiert dieses Gewebe auf die Infektion mit einer zumeist auf einige wenige Zellen beschränkten Abwehrnekrose (s. Abb. 1 a und b). Die Versuchsmethode wurde noch verbessert, indem als weiterer Parasit *Sclerotinia fruticola*, der Erreger einer Fruchtfäule des Steinobstes,

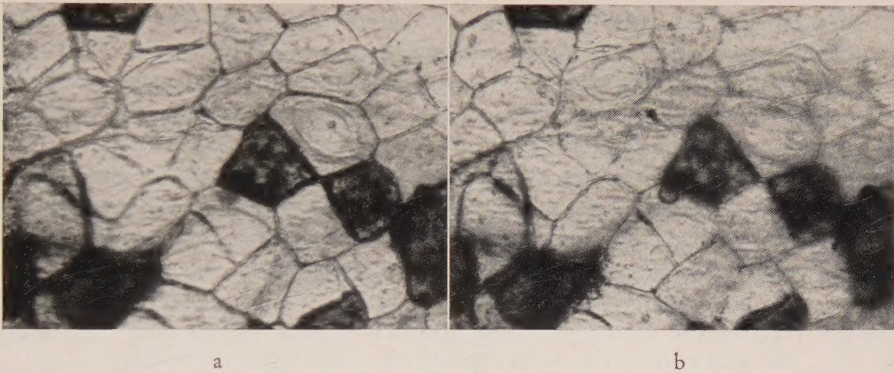


Abb. 1. Aufsicht auf die Epidermis einer Samenmulde, infiziert mit *Phytophthora*. Inkubationszeit: 24 Stunden (Temperatur: 20 ° C). Färbung: Rhodamin B (20 p.p.m). a = Aufnahme bei hocheingestelltem, b = bei tiefeingestelltem Tubus. Vergr. 450×. Beachte bei a die aufsitzenden Zoosporen, deren Keimschläuche in die Epidermiszellen eingedrungen sind

in die Versuche einbezogen wurde. Dieser Pilz löst ebenfalls eine schnell verlaufende Nekrose bei dem infizierten Gewebe aus (Abb. 2); gleichzeitig stellt er sein Wachstum ein.

Im folgenden sollen die in diesen Versuchen angewendete Technik und einige der mit ihr erzielten Ergebnisse geschildert werden.

Wegen der Einfachheit der Methoden können die Versuche ohne Schwierigkeit von jedem Studenten wiederholt werden. Sie dürften daher geeignet sein, auch im akademischen Unterricht die Wirkung PA-ähnlicher Stoffe zu demonstrieren.

Über die Ergebnisse dieser Untersuchungen wird in extenso in einer australischen Zeitschrift berichtet werden.

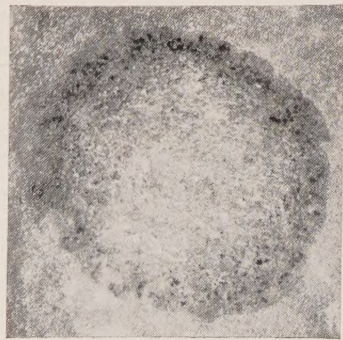


Abb. 2. Aufsicht auf die Epidermis einer Samenmulde, infiziert mit *Sclerotinia*. Inkubationszeit: 24 Stunden (Temperatur: 21 ° C). Aufgenommen nach Entfernung des Impftropfens. Vergr. 10×

phot. J. B. Pomeroy



## Versuchstechnik

Am besten eignen sich frisch geerntete halbreife Hülsen. Kann der Versuch nicht unmittelbar nach dem Pflücken der Früchte durchgeführt werden, so bewahre man sie bei Temperaturen zwischen 15 und 25 °C auf. Temperaturen unter 5 oder über 35 °C sind unbedingt zu vermeiden. Für den Gebrauch werden die Früchte nach äußerlicher Desinfizierung (60 % Alkohol, Behandlungsdauer nicht länger als zehn Minuten) mit einem sterilen Skalpell der Länge nach, entlang der Naht, aufgeschnitten. Sodann werden die Samen aus den Fruchtmulden herausgelöst. Mit der Außenepidermis nach unten werden die halbierten Früchte in eine feuchte Kammer gelegt.

Als feuchte Kammern sind flache Schalen (ausgekleidet mit feuchtem Fließpapier und bedeckt mit einer Glasplatte) zu empfehlen. Als Infektionsmaterial werden mäßig konzentrierte Konidienaufschwemmungen einer *Sclerotinia*-Reinkultur oder frische Zoosporen-Suspensionen von *Phytophthora infestans* benutzt. Diese werden mit einer Kapillarpipette in Einzeltropfen auf die Samenmulden verimpft. In der Regel bewahren die Tropfen ihre Gestalt; diejenigen, die zerfließen, fallen für weitere Verwendung aus. Die Schalen mit den infizierten Hülsenhälften werden in einem Raum mit einer Temperatur von etwa 20 °C const. aufgestellt.

Tabelle 1

Reaktion der Epidermis von 100 Samenmulden  
gegenüber *Sclerotinia fruticola*  
(Inkubationszeit: 4 Tage, Temperatur: 20 °C)

	Reaktions-Typus		
	a	b	c
Anzahl d. Varianten	85	14	1

a = Scharf begrenzte Nekrosen.

b = Nekrotischer Bezirk unscharf begrenzt, doch nicht mehr als 1 mm über die Impffläche hinausgreifend.

c = Wie b, doch Übergangszone zwischen parasitiertem und gesundem Gewebe breiter und verwäschener als bei b.

Die Schnelligkeit, mit der die ersten nekrotischen Veränderungen an den Infektionsstellen in Erscheinung treten, hängt weitgehend von der Temperatur ab. Bei 20 °C ist die Reaktion bei den meisten Samenmulden bereits nach 24 Stunden abgeschlossen. An der Stelle, wo der Infektionstropfen die Epidermis bedeckt, zeigt sich dann eine mehr oder weniger scharf begrenzte kreisförmige Verbräunung. Der Umfang des affizierten Gewebebezirkes nimmt in der Regel nicht zu. Tabelle 1 veranschaulicht die Variabilität der Reaktion bei 100 Samenmulden, die vier Tage vorher mit *Sclerotinia* infiziert worden waren. Die Reaktion nach Infektion mit *Phytophthora* verläuft, was den Kollaps der infizierten Zellen anbelangt, etwas langsamer. Hier tritt auch zumeist der Übergang von gesundem zu infiziertem Gewebe nicht so scharf wie nach Infektion mit *Sclerotinia* in Erscheinung.

Untersucht man das infizierte Gewebe unter dem Mikroskop, so findet man, daß der Parasit an zahlreichen Stellen in das Wirtsgewebe eingedrungen ist, und zwar zumeist dort, wo die antiklinen Wände der Epidermiszellen



aneinandergrenzen. Die infizierten Zellen haben einen braunen Farbton angenommen und ihren Turgor verloren. Gegenüber basischen Vitalfarbstoffen (z. B. Rhodamin B) besitzen sie jetzt eine hohe Affinität. Im großen und ganzen variiert die Zahl der je Infektionsstelle affizierten Zellen zwischen zwei und fünf. Bei den Samenmulden mit scharf begrenzter Nekrose stößt der Parasit nur selten über die zweite Zellschicht hinaus in das Parenchymgewebe vor.

Der Nachweis von antibiotischen Stoffen in den Infektionstropfen wird wie folgt geführt:

20 bis 24 Stunden nach der Infektion werden mit einer Kapillarpipette die Infektionstropfen wieder eingesammelt. Nach Möglichkeit ist hierbei Berührung der Gewebeoberflächen zu vermeiden. Die Ausbeute beträgt bis zu 80 % der ursprünglich aufgetragenen Flüssigkeitsmenge. Von 100 Infektionsstellen werden in der Regel etwa 1,5 cm<sup>3</sup> Diffusat gewonnen. Bei Anwendung der erforderlichen Sorgfalt erhält man bei mit *Sclerotinia* infiziertem Material eine Flüssigkeit, die außer den Konidien und Keimmyzelium des Pilzes keine anderen Mikroben enthält. Bedeutend schwieriger ist es jedoch, von *Phytophthora*-infizierten Hülsen Diffusate eines solchen Reinheitsgrades zu erhalten.

Die Diffusate werden nach der Entnahme zentrifugiert (13 000 Umdrehungen/Minute). Hierbei fällt ein schwachgelb gefärbtes glasklares Präparat an. Tiefgekühlt erhält es seine antibiotische Aktivität über Monate hinaus.

Zur Prüfung der Diffusate auf ihre antibiotische Wirkung werden mit Hilfe von Kapillarpipetten Verdünnungsreihen hergestellt. Folgende Verdünnungsstufen sind in der Regel ausreichend: 1 (unverdünntes Diffusat),  $\frac{2}{3}$ ,  $\frac{1}{2}$ ,  $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{6}$ ,  $\frac{1}{8}$ ,  $\frac{1}{12}$ ,  $\frac{1}{16}$ . Drei Tropfen je Einzeltest genügen, um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Als Behälter werden zweckmäßigerweise Uhrglasschälchen, mit Chromschwefelsäure gereinigt und abschließend mit glasdestilliertem Wasser gespült, verwendet. Nach Beschickung mit dem Testorganismus werden die Schälchen zur Vermeidung von Verdunstungsverlusten in geräumige Schalen verbracht, die mit feuchtem Fließpapier ausgelegt sind. Die Schalen werden bei Zimmertemperatur aufgestellt.

Soll *Phytophthora* als Testorganismus benützt werden, so wird der Testflüssigkeit je Schälchen ein Tropfen einer frischen Zoosporen-Suspension hinzugesetzt. Beim *Sclerotinia*-Test werden Agarplättchen (5 × 5 × 1 mm), in denen *Sclerotinia*-Konidien suspendiert sind, eingetragen. Dem Agar (1 %) werden keine Nährstoffe zugesetzt. Das Resultat des *Phytophthora*-Testes wird nach sechs Stunden, das des *Sclerotinia*-Testes nach 18 bis 24 Stunden abgelesen.

Alle diese Manipulationen sind unter möglichst sterilen Bedingungen durchzuführen.

Die Ablesungen können mit einem gewöhnlichen Kursmikroskop vorgenommen werden. Bei Schnell-Testen wird der Effekt nur geschätzt. Bei Prüfungen, in denen es auf quantitative Genauigkeit ankommt, wird der relative Anteil der gekeimten Sporen bestimmt oder die Länge der ent-

wickelten Keimschläuche gemessen. Jedem Test sind zwei Wasserkontrollen beizufügen.

Bemerkt sei noch, daß die PA-Ausschüttung von Bohnenfrüchten, eingesammelt von verschiedenen Beständen oder zu verschiedenen Zeiten, verschieden ausfallen kann. Dies muß stets in Rechnung gezogen werden, wenn aus Differenzen zwischen den Ergebnissen verschiedener Versuchsserien irgendwelche Schlüsse gezogen werden sollen.

### Die Versuche

#### a) Nachweis der antibiotischen Wirkung der Diffusate

Prüfen wir ein *Sclerotinia*-Diffusat, das nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden eingesammelt worden ist, auf seine Aktivität gegenüber *Sclerotinia*, so fällt das Ergebnis etwa wie in Tabelle 2 dargestellt aus. Wir sehen, das unverdünnte Diffusat übt eine starke Hemmung auf die Keimung der Konidien aus; die wenigen zur Keimung gelangten Sporen haben nur ganz kurze Keimschläuche entwickelt. In dem Diffusat, welches durch Aufimpfen keimfreien Wassers erhalten wurde, ist hingegen die Keimungsfrequenz hoch, lange Keimschläuche sind zur Entwicklung gelangt.

Tabelle 2

Antibiotische Wirkung eines Diffusates, gewonnen von Samenmulden, infiziert mit *Sclerotinia*

Inkubationszeit: 24 Stunden

Testorganismus: *Sclerotinia*

		Konzentration des Diffusates							
		1	$\frac{2}{3}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{6}$	$\frac{1}{8}$	0
Diffusat von Samenmulden, behandelt mit	<i>Sclerotinia</i>	⊙ vl	◐ ll	● ll	● ll	● ll	● ll	● ll	● ll
	sterilem Wasser	● ll	● ll	● ll	● ll	● ll	● ll	● ll	● ll

Bedeutung der Zeichen:

Hyphenlänge (Varianz):

vl = bis 30  $\mu$

ll = 20—350  $\mu$

ll = 0,05—0,75 mm

ll = 0,15—1,50 mm

Keimungsfrequenz:

○ = Keine Keimung.

⊙ = Vereinzelt Keimung.

◐ = Geringer als 50 %, bezogen auf Kontrolle (Konzentration 0).

● = Optimal ( $\sim$  Kontrolle).

Das Ergebnis eines quantitativen Testes ist in Abbildung 3 wiedergegeben. Das Diagramm dürfte für sich sprechen. Bemerkt sei nur noch, daß die Zahl der von jungen Myzelien gebildeten Seitenhyphen bei der Kontrollserie (Samenmulden mit reinem Wasser beimpft) bedeutend geringer als bei den mittleren Konzentrationen ( $\frac{1}{4}$  bis  $\frac{1}{16}$ ) ist. Zweifellos spielt hierbei die



Wirkung von Nährstoffen mit hinein, die zusammen mit dem toxischen Prinzip aus den parasitierten Zellen in die Wassertropfen hineindiffundieren.

Prüfen wir die antibiotische Wirkung eines *Phytophthora*-Diffusates, so erhalten wir grundsätzlich das gleiche Ergebnis. Die toxische Wirkung zeigt sich hier sogar noch eindrucksvoller als in dem vorhergehenden Versuch: Die Zoosporen platzen (Plasmoptyse) und entlassen ihren Inhalt in die umgebende Flüssigkeit (s. Abb. 4). Bei hohen Konzentrationen setzt diese Reaktion schon wenige Minuten nach Überführung der Zoosporen in die Testflüssigkeit ein<sup>1)</sup>. Zoosporen, die im Bereich der Grenzkonzentration nicht platzen, keimen großenteils im Laufe der nächsten Stunden aus. Das Ergebnis eines Schnell-Testes ist in Tabelle 3 wiedergegeben. Bei Auszählung der geborstenen und der gekeimten Sporen ist das Ergebnis wie in Abbildung 5.

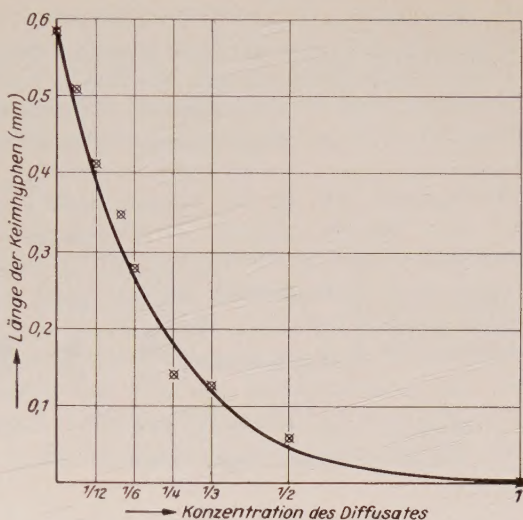


Abb. 3. Einfluß der Diffusat-Konzentration auf die mittlere Keimschlauchlänge von *Sclerotinia*. Einwirkungsdauer: 18 Stunden. 30 Einzelmessungen je Mittelwert

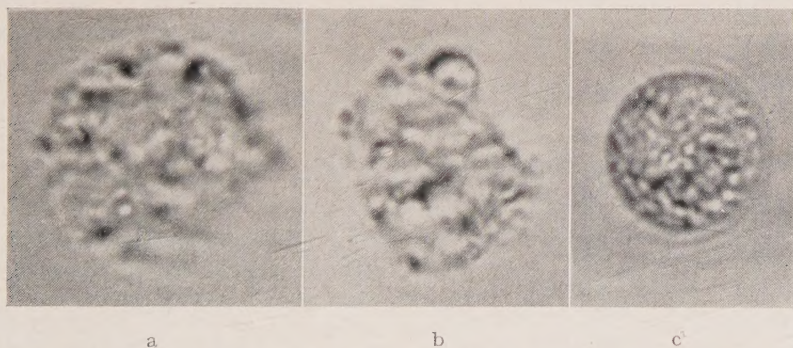


Abb. 4. Plasmoptyse-Reaktion von *Phytophthora*-Zoosporen. Konzentration des Phy-Diffusates:  $\frac{1}{2}$ . Einwirkungsdauer: 40 Minuten. a u. b: Behandelt; c: Kontrolle (dest. Wasser)  
phot. J. B. Pomeroy

<sup>1)</sup> In manchen Versuchsserien bleibt allerdings diese Reaktion aus. Dafür nimmt der Inhalt der Zoosporen ein granulöses Aussehen an, gleichzeitig ist eine leichte Verbräunung des Plasmas wahrzunehmen. Genaue Angaben können noch nicht gemacht werden, unter welchen Bedingungen der eine oder andere Reaktionsmodus realisiert wird.

Tabelle 3

Antibiotische Wirkung eines Diffusates, gewonnen von Samenmulden, infiziert mit *Phytophthora*

Inkubationszeit: 20 Stunden

Testorganismus: *Phytophthora infestans*

		Konzentration des Diffusates							
		1	$\frac{2}{3}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{6}$	$\frac{1}{8}$	0
Diffusat von Samenmulden, behandelt mit	<i>Phytophthora</i>	○ BB	○ BB	○ BB	○ BB	⊙ BB	◐ Bb	◑ bb	● bb
	sterilem Wasser	● bb	● bb	● bb	● bb	● bb	● bb	● bb	● bb

Bedeutung der Zeichen:

Keimungsfrequenz: siehe Tabelle 2.

Reaktion d. Z.-Sporen:

BB = 100 % geborsten

Bb = 10—99 % geborsten

bb = < 10 % geborsten

Die oben geschilderten Befunde lassen keinen Zweifel darüber übrig, daß in den Diffusaten ein stoffliches Prinzip vorhanden ist, das einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum der beiden Parasiten ausübt. Hierbei lassen wir zunächst offen, ob es sich um einen oder mehrere Stoffe handelt. Da in Diffusaten wie in Homogenaten, bereitet aus nicht-parasitierten Geweben, die Keimung der *Sclerotinia*-Konidien und der *Phytophthora*-Zoosporen normal ist, ist die toxische Wirkung der Diffusate aus parasitierten Geweben

auf Stoffe zurückzuführen, die in den von den Parasiten erfaßten Geweben postinfektionell zur Entstehung gelangen und von dort in die Infektionstropfen hineindiffundieren.

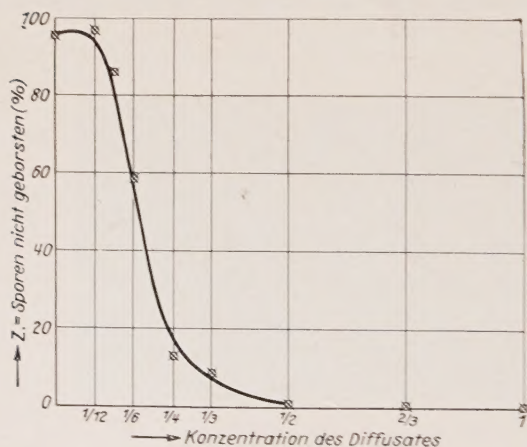


Abb. 5. Diffusat-Konzentration und Reaktion der *Phytophthora*-Zoosporen. Einwirkungsdauer: 6 Stunden. 250 bis 300 Zoosporen wurden je Konzentrationsstufe ausgezählt

b) Ermittlung der Geschwindigkeit, mit der das antibiotische Prinzip in den Diffusaten erscheint

Bei einer Temperatur von 20 °C vergehen bei *Phytophthora* etwa zwei Stunden, bei *Sclerotinia* etwa vier Stunden, bis Keimung der Sporen einsetzt. Nun hatten die eben geschilderten Versuche gezeigt, daß nach 24 Stunden in



den Diffusaten die Konzentration des antibiotischen Prinzipes so weit angestiegen ist, daß normale Weiterentwicklung des Parasiten nicht mehr möglich ist. Schon hieraus ist zu schließen, daß die für die Bildung des antibiotischen Prinzipes erforderliche Reaktionszeit weniger als 24 Stunden beträgt. Um die „wahre“ Reaktionszeit näherungsweise zu ermitteln, möge folgender Versuch angestellt werden:

In der eingangs geschilderten Weise werden 400 bis 500 Samenmulden mit *Sclerotinia* infiziert. Proben von etwa je 100 Tropfen werden nach verschiedenen Inkubationszeiten (etwa 8, 12, 16 und 24 Stunden) abgezogen und auf ihre antibiotische Wirksamkeit geprüft. Das Ergebnis eines solchen Versuches ist in Tabelle 4 mitgeteilt. Es zeigt sich, daß die Diffusate bereits 14 Stunden nach der Impfung eine deutliche Hemmung auf die Entwicklung des Testorganismus ausüben. Setzen wir von der Inkubationszeit die vier Stunden ab, die bis zur Keimung der *Sclerotinia*-Konidien in den Infektionstropfen vergehen, so reduziert sich die für die PA-Bildung erforderliche Mindestzeit auf zehn Stunden.

Tabelle 4

Die antibiotische Wirkung von Diffusaten, eingesammelt nach verschiedenen Inkubationszeiten

Konzentration der Diffusate	Diffusat eingesammelt nach Stunden			
	10	14	19	25
1	● LL	◐ 11	○ —	○ —
$\frac{1}{2}$	● LL	● LI	◐ 11	◐ 11
$\frac{1}{4}$	● LL	● LL	● LI	● LI
$\frac{1}{16}$	● LL	● LL	● LL	● LL
0	● LL	● LL	● LL	● LL

Zur Impfung wurde *Sclerotinia* benutzt. Testorganismus: *Sclerotinia*.

Aber auch diese Expositionszeit ist zu hoch gegriffen, wie folgender Versuch lehrt: Ein Diffusat, das bereits zwölf Stunden nach Aufsetzen der Infektionstropfen eingesammelt worden ist, wird durch Destillation bei Tiefkühlung auf  $\frac{1}{16}$  eingeeengt. Von dem Konzentrat wird in der üblichen Weise eine Verdünnungsreihe hergestellt und auf ihre antibiotische Wirksamkeit geprüft. Das Ergebnis eines solchen Versuches ist in Tabelle 5 wiedergegeben. Aus ihm ist zu schließen, daß bereits nach zwölf Stunden das antibiotische Prinzip, allerdings in untergeschwelliger Konzentration, in dem Diffusat vorhanden ist. Setzen wir wieder die vier Stunden ab, die bis zum Eintritt der Keimung des Parasiten vergehen, so ergibt sich, daß die PA-Produktion bereits acht Stunden nach der Infektion der Zellen in vollem Gange ist.

Zu dem gleichen Schluß gelangen wir auf Grund folgender Überlegungen: Der Parasit dringt im Laufe von 24 Stunden höchstens drei Zellschichten

Tabelle 5

Die antibiotische Wirkung eines Diffusates, abgesammelt  
12 Stunden nach Beimpfung der Samenmulden und auf  
ein Achtel konzentriert

	Konzentration des Diffusates					
	1	$\frac{2}{3}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{6}$	0
Original-Diffusat	● LL	● LL	● LL	● LL	● LL	● LL
Konzentr. Diffusat	◐ 11	● LI	● LL	● LL	● LL	● LL

Zur Impfung wurde *Sclerotinia* benutzt. Testorganismus: *Sclerotinia*.

tief in das Wirtsgewebe ein. Hierbei werden von ihm bei weitem nicht alle Epidermis-Zellen unmittelbar erfaßt. Nehmen wir dennoch an, daß alle Zellen des in Frage kommenden Gewebebezirkes an der Produktion des antibiotischen Prinzipes beteiligt sind, so ist das Volumen des vom Pilz affizierten Gewebes mit  $\frac{1}{4} \pi \cdot h \cdot d^2$  anzusetzen, wobei  $d$  = Durchmesser des kreisförmigen Reaktionsbezirkes und  $h$  = Tiefe, bis zu der der Parasit in das Wirtsgewebe vorgedrungen ist. Diesem Volumen steht das des Infektionstropfens ( $V$ ) gegenüber, auf das sich das antibiotische Prinzip durch Diffusion verteilt. Setzen wir völligen Diffusionsausgleich voraus, so gibt der

Quotient  $\frac{4 \cdot V}{\pi \cdot h \cdot d^2}$  einen guten Anhalt für den Verdünnungsgrad, mit dem das antibiotische Prinzip im Infektionstropfen erscheint. Durch direkte Bestimmung wurden für  $d$ ,  $h$  und  $V$  die Werte 3,6 mm, 0,17 mm und 35 mm<sup>3</sup> ermittelt. Bei Anwendung unserer Formel ergibt sich ein Verdünnungsgrad von etwa 70. Somit muß in den affizierten Geweben schon geraume Zeit, bevor in den Diffusaten die ersten Spuren von PA-artigen Stoffen festzustellen sind, die Bildung von antibiotischen Wirkstoffen eingesetzt haben (s. weitere Ausführungen zu dieser Frage auf S. 247).

Dehnt man die Inkubationszeit über die 24-Stunden-Grenze aus, so nimmt die antibiotische Wirkung der Diffusate nur noch unwesentlich zu. Dies ist verständlich, wenn wir bedenken, daß der Pilz bei voll reaktiven Bohnenhülsen bereits 18—24 Stunden nach der Aufbringung der Infektionstropfen sein Wachstum wieder einstellt. Nach dieser Frist stehen somit für die PA-Bildung frisch infizierte Zellen nicht mehr zur Verfügung. Offenbar ist die Ausschüttungskapazität der einzelnen Zelle begrenzt, und mit Erschöpfung des Reaktionspotentials (zeitlich vielleicht mit dem Tod der Zelle zusammenfallend) muß dann notwendigerweise auch die PA-Bildung zum Stillstand kommen.

### c) Spezifität der antibiotischen Wirkung der Diffusate

Im Grundversuch wird die toxische Wirkung der Diffusate gegenüber denjenigen Organismen geprüft, die zur Auslösung der Abwehrnekrose benutzt worden waren. Es fragt sich nun, ob das nach Verimpfung von *Phyto-*



*phthora* gewonnene Diffusate auch gegenüber *Sclerotinia* und das nach Verimpfung von *Sclerotinia* anfallende Diffusate auch gegenüber *Phytophthora* wirksam ist.

Tabelle 6 gibt auf diese Frage Auskunft. Sie zeigt, daß das *Sclerotinia*-Diffusate gegenüber *Phytophthora* und das *Phytophthora*-Diffusate gegenüber *Sclerotinia* wirksam ist. In einer späteren Arbeit wird ausführlich darüber zu berichten sein, daß solche Diffusate auch auf andere phytopathogene Pilze, z. B. *Uromyces trifolii* oder *Colletotrichum Lindemuthianum*, eine starke toxische Wirksamkeit ausüben. Die Spezifität der anfallenden Diffusate ist also gering. Auch dieses Ergebnis steht in guter Übereinstimmung mit der ursprünglichen Phytoalexin-Theorie.

Tabelle 6

Die antibiotische Wirkung von *Sclerotinia*- und von *Phytophthora*-Diffusaten auf *Sclerotinia* und auf *Phytophthora*

Konzentration des Diffusates	Diffusate von Hülsen, infiziert mit			
	<i>Sclerotinia</i>		<i>Phytophthora</i>	
	Scl. — Test	Phy. — Test	Scl. — Test	Phy. — Test
1	● Ll	○ BB	○ —	○ BB
$\frac{1}{2}$	● Ll	○ BB	● Ll	○ BB
$\frac{1}{4}$	● LL	● Bb	● Ll	○ BB
$\frac{1}{8}$	● LL	● bb	● LL	○ BB
0	● LL	● bb	● LL	● bb

Inkubationszeit: 24 Stunden (20° C).

#### d) Wirkung der Diffusate auf das Wirtsgewebe

Ein integrierendes Kennzeichen der „Abwehrnekrose“ ist das gemeinsame Schicksal von Parasit und Wirtszelle: Beide Partner gehen im Verlaufe der Reaktion zugrunde. Diese Tatsache legt den Gedanken nahe, daß im Verlaufe der Reaktion Stoffe gebildet werden, die auch auf die Wirtszellen eine toxische Wirkung ausüben. Folgender Versuch bestätigt diese Annahme:

Durch scharfes Zentrifugieren wird ein frisch gewonnenes *Sclerotinia*-Diffusate von den letzten Myzelresten befreit und tropfenweise auf etwa 20 Samenmulden verteilt. Nach Ablauf von 24 Stunden werden die Mulden mit scharfem Wasserstrahl ausgewaschen. Etwa zehn von ihnen werden in eine schwach konzentrierte Rhodamin-Lösung eingetragen (10 p.p.m.), die anderen werden zur Anfertigung von Oberflächenschnitten aus dem Impfbezirk benutzt. Als Kontrolle dienen Samenmulden, die mit reinem Wasser „beimpft“ worden sind.

Bei den mit Rhodamin behandelten Samenmulden tritt nach drei Stunden an der Stelle, wo wir das Diffusat aufgetragen hatten, eine markante Rotfärbung ein. Außerhalb der Impffläche bleibt Anfärbung aus. Bei den Gewebeschnitten zeigt sich unter dem Mikroskop, daß im Bereich der mit dem Diffusat behandelten Gewebebezirke zahlreiche Epidermis-Zellen kollabiert sind und z. T ihren Turgor verloren haben. Die als Kontrollen benutzten Samenmulden zeigen hingegen keine Reaktion. Somit ist erwiesen, daß die Diffusate auch auf das Wirtsgewebe eine toxische Wirkung ausüben.

Für die Erklärung dieses Ergebnisses kommen zwei Möglichkeiten in Betracht: 1. Die toxische Wirkung des *Sclerotinia*-Diffusates ist auf Stoffwechselprodukte des Pilzes zurückzuführen, die auch auf den üblichen, d. h. toten Kultursubstraten anfallen. 2. Das auf das Wirtsgewebe toxisch wirkende Prinzip ist das Resultat einer Interaktion zwischen Wirt und Parasit. Um zwischen diesen beiden Möglichkeiten zu entscheiden, gingen wir wie folgt vor: *Sclerotinia* wurde auf einem Homogenat von Bohnenhülsen, das mit Wasser auf die Hälfte verdünnt worden ist, angezogen. Nachdem der Pilz im Verlaufe von etwa acht Tagen an der Oberfläche des Nährsubstrates eine dichte Myzeldecke entwickelt hatte, wurde die Nährflüssigkeit abgossen, scharf zentrifugiert und durch Destillation auf die Hälfte eingeeengt. In Einzeltropfen wurde sodann das Konzentrat auf die Mulden von Bohnenfrüchten verteilt. Ein solcher Versuch fällt negativ aus. Somit müssen wir annehmen, daß das in den Diffusaten erscheinende histozide Prinzip das Resultat einer Interaktion zwischen dem lebenden Wirtsgewebe und dem Parasiten ist. Offen bleibt jedoch die Frage, ob das fungizide und das histozide Prinzip miteinander identisch sind.

e) Ist die Bildung des antibiotischen Prinzipes an einen „bestimmten“ Lebenszustand des Wirtsgewebes gebunden?

Folgende Versuche geben auf diese Frage Antwort: Zehn Bohnenhülsen werden longitudinal aufgeschnitten und so zerlegt, daß jedes Teilstückchen nur eine Samenmulde mitbekommt. 30 Stückchen werden auf sterile Reagenzgläser verteilt und für 90 Minuten in einem Wasserbad auf 41 °C erwärmt. 30 andere Teilstückchen bleiben unbehandelt. Beide Serien werden in eine feuchte Kammer verbracht und mit *Sclerotinia* infiziert. Nach 24 Stunden werden die Diffusate, getrennt nach Versuchsserien, eingesammelt. Nach dem Turgorzustand der Epidermis zu urteilen, ist auch bei den behandelten Teilstücken das nicht infizierte Gewebe am Leben. Beide Versuchsserien werden für weitere 48 Stunden in den Feuchtkammern belassen und sodann auf ihre Reaktion gegenüber den Parasiten beurteilt.

Auf den temperaturbehandelten Teilstückchen hat sich bis zum dritten Tage ein üppiges Luftmyzel mit zahlreichen Konidien entwickelt (s. Tabelle 7). Das Wirtsgewebe wird von dem Pilz vollkommen durchwuchert. Auf den Kontrollstückchen kommt es erwartungsgemäß nur zur Entwicklung von mehr oder weniger scharf begrenzten Nekrosen.



Tabelle 7

Der Einfluß supramaximaler Temperatur (42° C/90 Min.)  
auf die Reaktion der Hülsen gegenüber *Sclerotinia*

	Reaktion nach 4 Tagen			
	a	b	c	d
Behandelt	0	0	0	18
Kontrolle	17	1	0	0

a, b, c: siehe Tabelle 1;

d = der Pilz hat die Teilstückchen vollkommen durchwuchert;  
üppig entwickeltes Luftmyzel mit zahlreichen Konidien.

Die Testung der Diffusate ergibt, daß das Diffusat, das von den mit 41° C behandelten Teilstückchen gewonnen wurde, eine, wenn überhaupt, nur sehr schwache antibiotische Wirkung auf *Sclerotinia* ausübt; das von den Kontrollstückchen entnommene Diffusat hingegen zeigt normale Aktivität (Tab. 8).

Tabelle 8

Antibiotische Wirkung der Diffusate von vorbehandelten  
(42° C/90 Min.) und nicht vorbehandelten Hülsen

	Konzentration der Diffusate				
	1	1/2	1/4	1/12	0
Behandelt	● LI	● LL	● LL	● LL	● LL
Kontrolle	⊙ vl	⊙ ll	● LI	● LL	● LL

Dieser Versuch zeigt, daß der der Abwehrnekrose zugrunde liegende Reaktionsmechanismus durch kurzfristige Behandlung der Bohnenhülsen mit supramaximalen, doch subletalen Temperaturen außer Funktion gesetzt wird. Da gleichzeitig das Wirtsgewebe die Fähigkeit der PA-Bildung verloren hat, so haben wir mit diesem Ergebnis einen weiteren Beweis dafür, daß die Abriegelung des Parasiten an der Infektionsstelle auf der postinfektionellen Aktivierung antibiotischer Wirkstoffe beruht.

#### Einige Bemerkungen über die Natur der antibiotischen Reaktionsprodukte

Von den zur Klärung dieser Frage in Canberra durchgeführten Untersuchungen, die ausführlich in einer australischen Zeitschrift beschrieben werden, seien hier nur die wichtigsten Ergebnisse erwähnt:

1. Das in den Diffusaten vorhandene antibiotische Prinzip besteht aus mindestens zwei Komponenten. Diese Tatsache ist bei der Interpretierung der vorstehend geschilderten Versuchsergebnisse in Rechnung zu setzen; dies gilt im besonderen, wenn die Frage der Spezifität der Reaktion zur Diskussion steht.

2. Bei niedrigen Konzentrationen ist die Wirkung der Diffusate eine statische; bei höheren Konzentrationen und bei längerer Einwirkungsdauer geht sie in eine fungizide Wirkung über.

3. Dialyse-Versuche zeigten, daß das wirksame Prinzip Kollodiummembranen passierte. Dieses Ergebnis läßt auf eine relativ geringe Molekülgröße der wirksamen Stoffe schließen. Das Dialysat zeigt fungizide wie histozide Eigenschaften.

4. Die Wirksamkeit der Diffusate ist in weiten Grenzen unabhängig von der H-Ionen-Konzentration und dem Nährstoffgehalt der Testflüssigkeit.

5. Die Aktivität der Diffusate bleibt bei Temperaturen unter dem Gefrierpunkt Monate lang erhalten.

6. Die antibiotische Wirksamkeit der Diffusate wird durch kurzfristige Erhitzung auf 100 °C nicht aufgehoben. Allerdings vollziehen sich bei dieser Temperatur Umsetzungen, die die antibiotische Wirksamkeit sogar erhöhen können.

7. Die pH-Werte der frisch entnommenen Diffusate schwanken um den Wert 6,0. Die osmotischen Werte bewegen sich um 0,6 Atmosphären. „Einfache“ chemo-physikalische Faktoren, wie hohe H-Ionen-Konzentrationen oder hohe osmotische Werte, kommen daher als Ursache der fungiziden und histoziden Wirkung der Diffusate nicht in Frage.

Auch diese Tatsachen stehen in gutem Einklang mit der Auffassung, daß die Entwicklungshemmung des Parasiten in den nekrotischen Geweben auf der postinfektionellen Aktivierung antibiotischer Wirkstoffe beruht.

### Rückblick

In den vorstehenden Ausführungen wurde mit Absicht das Schwergewicht auf die Beschreibung einer Technik gelegt, die geeignet ist, die biologische Aktivität jener Stoffe sinnfällig zu demonstrieren, deren Existenz wir vor 16 Jahren postulierten. Von einer Erörterung der erhaltenen Ergebnisse in einem größeren Zusammenhang und unter Einbeziehung der neuesten einschlägigen Literatur sei vorerst abgesehen. Hier mögen folgende Bemerkungen genügen:

Der Vorteil der geschilderten Methoden liegt darin, daß

1. alle Manipulationen unter weitgehend sterilen Bedingungen durchgeführt werden können,
2. eine „Überblendung“ des Reaktionsablaufes durch stoffliche Änderungen, etwa ausgelöst durch Wundreiz, ausgeschlossen ist,
3. chemische Umsetzungen des wirksamen Prinzipes durch technische Manipulationen (z. B. durch Anwendung von Extraktionsmitteln) vermieden werden,
4. phytopathogene Pilze zur Auslösung einer Abwehrnekrose benutzt werden, deren Ernährungsphysiologie in vitro studiert werden kann,
5. die Versuchsbedingungen bezüglich der Außenfaktoren unter strikter Kontrolle gehalten werden können und schließlich
6. die zur Bildung von antibiotischen Wirkstoffen erforderliche Reaktionszeit erstaunlich kurz ist.



Was das letzte Moment anbelangt, sei noch folgendes erwähnt: Wie auf Seite 247 ausgeführt, üben die Diffusate auch eine histozide Wirkung aus. Dieses Ergebnis läßt darauf schließen, daß beträchtliche Mengen des antibiotischen Prinzipes von den Zellen aufgenommen werden, die nicht von dem Pilz unmittelbar erfaßt worden sind. Diese Annahme wurde durch Versuche bestätigt, in denen quantitativ die „Entgiftung“ der aktiven Diffusate durch nicht-parasitiertes Fruchtparenchym verfolgt wurde. In kurzer Zeit hatten die Diffusate ihre Aktivität verloren, höchstwahrscheinlich durch Adsorption des antibiotischen Prinzipes an das Wirtsplasma. Technisch bedeutet dies aber, daß in den Diffusaten erst dann nennenswerte PA-Mengen anfallen können, wenn die an den Infektionstropfen angrenzenden, aber noch nicht mit dem Parasiten in Kontakt gelangten Zellen mit dem antibiotischen Prinzip abgesättigt sind. Mithin dürfte, wenn wir als Reaktionseinheit die einzelne Zelle zugrunde legen, auch die im vorstehenden postulierte Reaktionszeit von acht Stunden immer noch zu hoch gegriffen sein.

Diesen positiven Momenten steht — jedoch nur auf den ersten Blick — ein Nachteil gegenüber: Bei den geschilderten Versuchen wurden Wirt-Parasit-Kombinationen benutzt, die klinisch bedeutungslos sind. Unter natürlichen Verhältnissen sind weder *Phytophthora infestans* noch *Sclerotinia fruticola* als Parasiten der Buschbohne beobachtet worden. Dieses Argument verliert jedoch an Gewicht, wenn wir von der biologischen Seite her an das Problem herantreten. Dann wird offenbar, daß der Überempfindlichkeitsreaktion im Kampf der Pflanze gegen potentielle Parasiten eine viel größere Bedeutung zukommt, als gemeinhin dem nur klinisch interessierten Phytopathologen bewußt wird. Zum Beispiel vermag *Phytophthora infestans* außer den Hauptwirten, Kartoffel und Tomate, auch zahlreiche andere, darunter viele nicht zu den Solanaceen gehörenden Pflanzen anzugreifen. Doch mit einer lokalen Nekrose wird schnell die Infektionsstelle von dem umgebenden Gewebe abgeriegelt. In dieser Hinsicht nimmt *Phytophthora infestans* keine Sonderstellung ein. *Sclerotinia fruticola*, auf junge Blätter von *Brassica oleracea*, oder *Uromyces trifolii* und *Plasmopara viticola*, auf die innere Epidermis der *Phaseolus*-Frucht verimpft, lösen, um nur einige weitere Beispiele zu nennen, ebenfalls eine schnell verlaufende Abwehrnekrose aus. Dehnen wir also unsere Betrachtungen auf alle theoretisch denkbaren Wirt-Parasit-Kombinationen aus, so stellt die Überempfindlichkeits-Reaktion nicht die Ausnahme, sondern die Regel in der Auseinandersetzung zwischen Wirtszelle und Parasit dar. Das heißt mit anderen Worten: Von den zahlreichen<sup>1)</sup> Infektionen (nicht zu verwechseln mit Kontaminationen), denen eine Pflanze im Laufe ihrer Entwicklung ausgesetzt ist, haben nur einige wenige eine klinisch ins Gewicht fallende Schädigung der Wirtspflanze zur Folge. Diese Situation unterstreicht aber geradezu die Bedeutung, die der Überempfindlichkeitsreaktion im „Kampf“ der Pflanzen „ums Dasein“ zukommt. Sie dürfte vielleicht die wichtigste Waffe dar-

1) „Zahlreich“ bezieht sich hier auf die Wirt-Parasit-Kombinationen!

stellen, mit der die Pflanze sich noch des Angriffes eines Parasiten erwehren kann, wenn alle anderen Resistenz-Faktoren (z. B. mechanischer Widerstand der Epidermis oder präformierte Toxine) versagt haben.

Schließlich möge noch ein Moment von allgemeiner Bedeutung berührt werden: Man kann die in den Diffusaten nachgewiesenen antibiotischen Wirkstoffe, alias Phytoalexine, als „postinfektionell zur Bildung gelangende Abwehrstoffe“ auffassen. Das Schwergewicht ist bei dieser Definition auf die funktionelle Bedeutung dieser Stoffe im „Abwehrkampf“ der Pflanze gegen den e i n g e d r u n g e n e n Parasiten gelegt. Wir können aber als wesentliches Merkmal der Phytoalexine auch die toxische Wirkung herausstellen. Dann wären die Phytoalexine jenen Wirkstoffen zuzuordnen, die gemeinhin als „Antibiotika“ bezeichnet werden<sup>1)</sup>. Allerdings besteht ein wesentlicher Unterschied zwischen einem „klassischen“ Antibiotikum und einem Phytoalexin: An der Bildung der ersteren ist nur ein Organismus beteiligt; das Substrat, das die Bausteine für die Synthese des Antibiotikums liefert, spielt eine nur passive Rolle. Bei der Bildung der Phytoalexine hingegen sind zwei Stoffwechselsysteme im Spiele; ein passives „Nährsubstrat“ entfällt hier. Hier fungiert also das l e b e n d e Plasma des Wirtes als Substrat. Dieses ist aber nicht allein der Lieferant des Ausgangsmaterials für die Bildung des antibiotischen Wirkstoffes, es ist auch aktiv an seiner Entstehung beteiligt. Welche Rollen den beiden Partnern an diesem Prozeß zukommen, ist uns allerdings noch verschlossen. Doch dürfte nach allem, was wir heute über die Physiologie der nekrogenen Abwehrreaktionen wissen, kein Zweifel mehr darüber bestehen, daß es sich hierbei um eine I n t e r a k t i o n e n z y m a t i s c h e r N a t u r zwischen Wirtszelle und Parasit handelt.

### Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, mit deren Hilfe leicht die postinfektionelle Aktivierung von antibiotischen Wirkstoffen in Pflanzengewebe nachgewiesen werden kann, die auf den Angriff eines Parasiten mit „nekrogener Abortion“ (Suprasensitivitäts- oder Überempfindlichkeits-Reaktion) reagieren.

In den geschilderten Versuchen wurden die Epidermis und die ihr angrenzenden Zellschichten der Samenmulden von *Phaseolus vulgaris* und die parasitischen Pilze *Phytophthora infestans* und *Sclerotinia fruticola* benutzt. Beide Parasiten lösen bei diesem Gewebe eine typische Abwehrnekrose aus. Die Methode besteht darin, daß unter weitgehend sterilen Bedingungen Diffusate aus dem auf den Infekt reagierenden Gewebe hergestellt und an Hand von Verdünnungsserien auf ihre antibiotische Wirksamkeit geprüft werden.

<sup>1)</sup> Nach der heute allgemein angenommenen Definition ist ein Antibiotikum „a substance produced by microorganisms which has the capacity to inhibit and even to destroy bacteria and other microorganisms“ (WAKSMAN).



Die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche zeigen:

1. Spätestens acht Stunden nach Eindringen des Parasiten in das Wirtsgewebe ist die Bildung von antibiotischen Wirkstoffen (Phytoalexine) in vollem Gange (Temperatur: 20 ° C). Legen wir als Reaktionseinheit die individuelle Wirtszelle zugrunde, so muß eine noch kürzere Reaktionszeit postuliert werden.
2. Die Bildung von Phytoalexinen ist das Ergebnis einer I n t e r a k t i o n zwischen dem Parasiten und den lebenden Wirtszellen.
3. Die Spezifität der Diffusate ist beschränkt. So ist ein nach Verimpfung von *Sclerotinia* anfallendes Diffusat auch gegenüber *Phytophthora infestans* wirksam.
4. Diffusate üben auch auf das Wirtsgewebe eine toxische Wirkung aus (histozider Effekt). Hieraus erklärt sich das gemeinsame Schicksal der beiden Reaktionspartner im Verlaufe der Interaktion.

Diese Ergebnisse stehen in guter Übereinstimmung mit der vom Verfasser vor 16 Jahren aufgestellten Phytoalexin-Theorie.

Ferner werden folgende Aussagen über die Natur und biologische Aktivität der wirksamen Prinzipien gemacht:

1. In den Diffusaten sind wenigstens zwei wirksame Komponenten enthalten.
2. Das oder die wirksamen Prinzipien sind dialysierbar. Das Dialysat besitzt sowohl fungizide wie histozide Eigenschaften.
3. Die fungizide Wirksamkeit der Diffusate ist in weiten Grenzen unabhängig von der H-Ionen-Konzentration und von der Gegenwart von Stoffen, die dem Parasiten als Nährstoffe dienen könnten.
4. Die antibiotische Wirksamkeit der Diffusate bleibt bei Temperaturen unter 0 ° C über Monate hinweg erhalten.
5. Die antibiotische Wirksamkeit der Diffusate wird nicht durch Erhitzen auf 100 ° C aufgehoben, doch vollziehen sich bei dieser Temperatur Umsetzungen, die die Wirksamkeit zumindest einer Komponente des Diffusates erhöhen können.
6. Unverdünnte Diffusate rufen bei *Sclerotinia* zunächst nur einen statischen Effekt hervor. Erst bei höheren Konzentrationen oder bei längerer Einwirkungsdauer geht der fungistatische Effekt in einen fungiziden über.

Im Schlußkapitel wurden die Vorteile und Nachteile der beschriebenen Methoden erörtert. Ferner werden die Phytoalexine als Antibiotika definiert, an deren Synthese z w e i Stoffwechselsysteme, der Parasit und die Wirtszelle, aktiv beteiligt sind.

### Summary

A method is described which makes it possible to demonstrate easily the postinfectional development of antibiotic factors (phytoalexines) in host tissues which react with local lesions to an invading parasite (resistance

due to suprasensitivity). It consists in:

1. Separating the antibiotic principle from the reacting host tissue by diffusion.
2. Testing the antibiotic activity of the diffusates semi-quantitatively by bio-assay.

In using the inner epidermis of *Phaseolus vulgaris* pods as host tissue and *Sclerotinia fruticola* and *Phytophthora infestans* as pathogens, results as follows were obtained:

1. At a temperature of 20 ° C, and not later than eight hours after the parasite has invaded the host, the presence of antibiotic factors can be detected in diffusates obtained from the reacting tissues.
2. The fungicidal principle is produced as result of an interaction between the living host tissue and the parasite.
3. The antibiotic action of the crude diffusates is not specific.
4. During the interaction a substance appears which exerts a toxic effect on the host cells as well.

The last result explains why both the parasite and the host cells die in the course of interaction.

Statements concerning the nature and biological activity of the active principle are made, as follows:

Crude preparations are active within a wide range of pH, temperature and nutrient conditions. The active principle is dialysable. Activity is not destroyed by holding at temperatures below freezing point for three months nor by heat treatment (100 ° C). Heat treatment indeed induces some changes which may even increase their toxicity. There are at least two components with antibiotic activity in the crude preparations.

The advantages of the method used are discussed. „Phytoalexines“ are defined as antibiotics which are the result of an interaction of two different metabolic systems, the host and the parasite, and which inhibit the growth of microorganisms pathogenic to plants.

Ich danke den Herren C. G. GREENHAM und W. BOTTOMLEY für die Hilfe, die sie mir bei der Durchführung dieser Untersuchungen geleistet haben. Mr. GREENHAM führte die kryoskopischen Bestimmungen durch; Dr. BOTTOMLEY stellte Konzentrate und Dialysate her. Fräulein R. M. BOCHERT war mir eine wertvolle Assistentin bei der Herstellung und Testung der Diffusate.

#### Literaturverzeichnis

1. DIMOND, A. E. and WAGGONER, P. E., 1953: On the Nature and Role of Vivotoxins in Plant Disease. *Phytopathology* 43, 229—235.
2. GÄUMANN, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Basel.
3. MÜLLER, K. O., 1950: Affinity and Reactivity of Angiosperms to *Phytophthora infestans*. *Nature* 166, 392—394.
4. — —, MEYER, G. und KLINKOWSKI, M., 1939: Physiologisch-genetische Untersuchungen über die Resistenz der Kartoffel gegenüber *Phytophthora infestans*. *Naturwissenschaften* 27, 765—768.
5. — — und BÖRGER, H., 1940: Experimentelle Untersuchungen über die *Phytophthora*-Resistenz der Kartoffel. *Arb. Biol. Reichsanst.* 23, 189—231.
6. WAKSMAN, S. A., 1947: What is an Antibiotic Substance? *Mycologia* 39, 565—569.



Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule  
in Zürich

Direktor: Prof. Dr. E. Gäumann

## Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von pflanzlichen Protoplasten

Von

ELISABETH BACHMANN

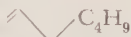
Mit 14 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Kap.: Methoden. — 2. Kap.: Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhodo*-Protoplasten. — 3. Kap.: Der Einfluß einiger mit Fusarinsäure verwandter Pyridinderivate auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhodo*-Protoplasten. — 4. Kap.: Der Einfluß von Fusarinsäure auf die nicht-osmotische Stoffaufnahme bei *Rhodo*. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

### Einleitung

*Fusarium lycopersici* Sacc. ist einer der Erreger der infektiösen Tomatenwelke. Als Toxine konnten aus dem Kulturfiltrat Fusarinsäure, eine Pyridinmonocarbonsäure, Lycomarasmin, ein Dipeptid, und Vasinfuscarin, ein chemisch noch unbekannter Stoff, isoliert werden (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952; GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER, 1950; GÄUMANN, STOLL und KERN, 1952). Fusarinsäure verursacht Nekrosen an den Blättern und Stengeln, Lycomarasmin nur an den Blättern der Tomatenpflanze. Vasinfuscarin bräunt die Leitungsbahnen der Tomatensprosse. Von den drei vom Organismus in vitro gebildeten Toxinen konnte bis heute erst Fusarinsäure in infizierten Pflanzen nachgewiesen werden (LAKSHMINARAYANAN und SUBRAMANIAN, 1955; KERN und KLÜPPEL, 1956). Damit ist der Beweis erbracht, daß es sich bei Fusarinsäure wirklich um ein Vivotoxin handelt und nicht, wie oft angenommen wurde, um ein nur in vitro gebildetes Stoffwechselprodukt (DIMOND und WAGGONER, 1953).

In der vorliegenden Arbeit soll der Wirkungsmechanismus der Fusarinsäure verfolgt werden.



Fusarinsäure (5 n-Butyl-pyridin-2-carbonsäure)

Fusarinsäure ist eine Pyridin-monocarbonsäure von der Bruttoformel  $C_{10}H_{13}O_2N$  und dem Molekulargewicht 179. Sie wurde erstmals von YABUTA, KAMBE und HAYASI (1934) aus dem Kulturfiltrat von *Fusarium heterosporum* Nees., einem Erreger der Bakanaekrankheit des Reises in Japan, rein dargestellt. Die Konstitutionsaufklärung (YABUTA, KAMBE und HAYASI, 1934) ergab, daß es sich um 5n-Butyl-pyridin-2-carbonsäure handelt. PLATTNER, KELLER und BOLLER (1954) gelang es, Fusarinsäure zu synthetisieren. Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Versuche wurden alle mit synthetischer Fusarinsäure ausgeführt, die in ihrer biologischen Aktivität der natürlichen Fusarinsäure entspricht (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952). Die dosis minima des Toxines für Tomatensprosse liegt bei 150 mg/kg Lebendgewicht.

Was man im Welketest 48 Stunden nach der Toxinapplikation als Nekrose bestimmt, ist durch eine Summation von Einzelschädigungen entstanden. Um aber den Wirkungsmechanismus der Fusarinsäure abzuklären, müssen wir die einzelnen Teilschritte kennen, die zu einer Schadwirkung führen. Wie Transpirationsversuche zeigten, verändert Fusarinsäure die Wasseraufnahme und -abgabe von Tomatenpflanzen schon bevor die Pflanze Krankheitssymptome aufweist (unveröffentlichte Versuche von Dr. H. KERN). Nach der von GÄUMANN und JAAG (1946, 1947 a) aufgestellten Theorie über das Zustandekommen der irreversiblen toxischen Welke ist eine ihrer primären Ursachen in einer Schädigung der Permeabilität der Plasmagrenzschichten zu suchen. Modellversuche (GÄUMANN, JAAG und BRAUN, 1947; GÄUMANN und VON ARX, 1947; GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952) bestätigten diese Annahme, gaben aber noch keinen Aufschluß über die Wirkungsweise der Fusarinsäure. Die eben genannten Autoren zählen Fusarinsäure zusammen mit Enniatin A, Patulin, Penicillinsäure, Streptomycin und Aureomycin zu den spezifischen Osmosegiften, das heißt zu Giften, die noch in geringen Konzentrationen die osmotischen Eigenschaften der Zelle zu stören vermögen.

Bei der unter Fusarinsäure-Einfluß übersteigerten Transpiration wird nicht nur der Wasserumsatz pathologisch verändert; es werden mit dem Transpirationsstrom auch osmotisch wirksame Stoffe, Aminosäuren und Salze, an die Blattoberfläche gebracht (LINSKENS, 1955). Die Menge der Rekrete ist bei toxisch gewelkten Tomatenpflanzen um ein Vielfaches größer als bei physiologisch gewelkten. Diese pathologisch erhöhte Rekretion ist zum Teil auch die Folge einer Störung der Semipermeabilität der Plasmagrenzschichten.

Die Versuchsergebnisse lassen die Frage offen, wie und in welchem Ausmaße Fusarinsäure die osmotischen Eigenschaften des pflanzlichen Plasmas beeinflusst. Diese Frage abzuklären, war die Aufgabe der nachfolgenden Versuche. THATCHER (1942) fand bei abgeschnittenen Tomatensprossen, die er in das Filtrat einer vier Wochen alten Kultur von *Fusarium lycopersici* Sacc. stellte, nach 48 Stunden die ersten Welkeerscheinungen und gleichzeitig eine gegenüber Kontrollpflanzen stark erhöhte Wasserpermeabilität in den Palisadenzellen der Interkostalfelder. Die Deplasmolyse verlief in den Palisadenzellen



von welkenden Pflanzen ungefähr doppelt so rasch wie in den unvergifteten Kontrollzellen. Der Autor schloß daraus, daß durch das Welketoxin die Wasserpermeabilität der Plasmamembran der Wirtszelle erhöht worden ist. GOTTLIEB (1944) erhielt gleiche Resultate bei infizierten und nichtinfizierten Tomatenpflanzen. ZÄHNER (1955) konnte zeigen, daß die Wasserpermeabilität des Plasmas von Stickstoffmangelpflanzen durch Fusarinsäure in viel geringerem Ausmaße verändert wird als die von normal ernährten Pflanzen (Plasmolyse-Deplasmolyse-Verfahren mit Tomatenblattstielhaaren). Die Wasseraufnahme wird bei normal ernährten Pflanzen durch Fusarinsäure stark erhöht; diese Reaktion bleibt bei Stickstoffmangelpflanzen aus.

## 1. KAPITEL

### Methoden

#### a) Allgemeines

Untersuchungen über die Stoffaufnahme der lebenden Zelle gehen von der Voraussetzung aus, daß die Stoffaufnahme ein rein osmotischer Vorgang ist. Sie ist identisch mit der Permeation, dem physikalisch definierten Prozeß einer behinderten Diffusion. Die aufgenommene Stoffmenge ist durch die Differenz der osmotischen Werte des Zellsaftes und des Plasmolytikums gegeben. Die Zeit, in der sie aufgenommen wird, ist bestimmt durch die Permeabilität der Grenzschichten.

HUBER und HÖFLER (1930) faßten die Wasserpermeabilität als Druckfiltration auf. FREY-WYSSLING und VON RECHENBERG-ERNST (1943) und FREY-WYSSLING und BOCHSLER (1947) zeigten, daß es sich auch bei der Wasserpermeation um einen Diffusionsvorgang handelt.

BOCHSLER (1948) kann mathematisch und experimentell nachweisen, daß nicht nur die Permeation gelöster Stoffe, sondern auch jene von Wasser dem Fickschen Diffusionsgesetz (FICK, 1855) gehorcht. Die Permeabilitätskonstante für Wasser ist demnach gleich definiert wie jene der gelösten Stoffe und hat auch die Dimension Weg/Zeit. Das Diffusionsgesetz gilt sowohl für die Plasmolyse als auch für die Deplasmolyse. Bei der Deplasmolyse ist das Konzentrationsgefälle bekannt, da der Plasmolyse-Endgrad durch den osmotischen Wert des Plasmolytikums und den des Vakuoleninhaltes bestimmt ist. Es genügt also, die Zeit  $t$  zu bestimmen, die der Protoplast braucht um sich wieder voll auszudehnen (DE HAAN, 1935). Die Zeit  $t$  ist abhängig vom Diffusionswiderstand des Plasmas. Damit ist es möglich, die Veränderung der Wasserpermeabilität durch Toxine zu messen.

#### b) Versuchsobjekte

Weder die von THATCHER (1942) noch die von ZÄHNER (1955) benützten pflanzlichen Gewebe eignen sich für große Reihenuntersuchungen: *Solanum Lycopersicum* L. ist ein ungeeignetes Objekt für plasmometrische Untersuchungen. Nur mit großem Material- und Zeitaufwand können statistisch gesicherte Ergebnisse erhalten werden. Die hier beschriebenen Untersuchungen wurden deshalb mit *Spirogyra* und *Rboco* ausgeführt, zwei Objekten, die sich

für plasmometrische Versuche eignen. Mit wenigen Versuchen kann dann später abgeklärt werden, ob sich das Plasma von Tomate gegenüber Fusarinsäure wie das Plasma eines der hier geprüften Modell-Objekte verhält.

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Art konnte als *Spirogyra nitida* (Dillwyn) Link. bestimmt werden. GÄUMANN und VON ARX (1947) benutzten sie als Testobjekt, um den Giftigkeitsgrad einzelner Toxine zu bestimmen. Dabei wurden Fadenstücke von *Spirogyra* in Toxinlösungen verschiedener Konzentration eingelegt, und es wurde die Einwirkungszeit bestimmt, die nötig ist, um eine nachfolgende Plasmolyse in einer 0,8 molaren Saccharoselösung zu verhindern. Die Frage bei meinen Versuchen war, ob bei Permeabilitätsmessungen an *Spirogyra* eine Schädigung der Wasserpermeabilität durch die Toxine von anderen Schädigungen unterschieden werden kann.

Um neben *Spirogyra* auch noch eine Blütenpflanze in die Untersuchungen einzubeziehen, wurde in Anlehnung an die Arbeiten von GUTTENBERG und BEYTHIEN (1951) und BOGEN (1940, 1953) *Rhoeo discolor* (L'Hér.) Hance gewählt. Die untere rotgefärbte Blattepidermis ist für plasmometrische Untersuchungen sehr geeignet.

Die für meine Untersuchungen benötigten Pflanzen wurden im Gewächshaus bei etwa 30 °C und hoher Feuchtigkeit gehalten. Die Umweltsbedingungen haben aber keinen Einfluß auf die Toxinempfindlichkeit des Plasmas; das zeigten Parallelversuche mit Pflanzen aus dem Kalthaus.

#### c) Versuchsanordnung

Für die Untersuchungen wurden Chemikalien der Reinheit „pro analysi“ verwendet, von denen mit destilliertem Wasser oder mit Äthanol  $1 \cdot 10^{-1}$  molare Stammlösungen hergestellt wurden. Von diesen ausgehend wurden die Testlösungen im Konzentrationsbereich  $1 \cdot 10^{-2}$  bis  $1 \cdot 10^{-9}$  Mol/Liter zubereitet. Das als Lösungsmittel verwendete Wasser stammte aus einer mit Kupferblech ausgeschlagenen Dampfdestillationsanlage und hatte einen fast konstanten pH-Wert von 5,2.

Für die Überlassung und Herstellung der mit der Fusarinsäure verwandten Pyridinderivate möchte ich Herrn Prof. Dr. R. MEYER, CIBA, Basel, und Herrn Dr. E. HARDEGGER vom Organisch-chemischen Institut der E.H.T., Zürich, bestens danken.

Als Plasmolytikum diente im Falle von *Spirogyra* eine 0,8 molare Saccharoselösung, im Falle von *Rhoeo* eine 0,3 molare Mannitlösung. Auch hier diente destilliertes Wasser als Lösungsmittel. Als Deplasmolytikum wurde Leitungswasser verwendet.

In kleine Feuchtschalen wurden 3 bis 4 ml Toxinlösung gegeben. Darin verblieb das Testobjekt während 30 Minuten und wurde nachher für weitere 30 Minuten in das Plasmolytikum gebracht. Dazwischen wurde es auf Filterpapier leicht abgetrocknet, um zu verhüten, daß wesentliche Mengen Testlösung in das Plasmolytikum mitgeschleppt wurden. Innerhalb von 30 Minuten erreichten alle Protoplasten, wie Vorversuche zeigten, den dem Plasmolytikum entsprechenden Plasmolyse-Endgrad. Auf einem Hohlschliffobjektträger wurde unter dem Mikroskop bei stets gleicher Beleuchtung und Vergrößerung



die Deplasmolyse in Leitungswasser beobachtet. Es wurde die Zeit bestimmt, die ein Protoplast brauchte, um sich wieder voll auszudehnen. Bei *Spirogyra* wurde die Deplasmolysezeit von fünf in einem Fadenstück aufeinanderfolgenden Zellen bestimmt; bei *Rhodo* jene von einzelnen Zellen in der 20. bis 25. Zellreihe vom Rande des Schnittes entfernt. Die Schnitte der unteren roten Epidermis von *Rhodo*-Blättern wurden mit einem Rasiermesser hergestellt und ohne vorheriges Wässern direkt in die Testlösungen gebracht. Für jeden Versuch wurde die Epidermis des mittleren Blattdrittels eines einzigen Blattes verwendet.

Bei jeder geprüften Toxinkonzentration wurden 70 bis 100 Messungen gemacht und diese gemittelt. Die Deplasmolysezeiten, gemessen nach der Einwirkung von Leitungswasser, wurden als Kontrollwerte benützt. Die Streuung der einzelnen Messungen war ziemlich groß und konnte bei beiden Objekten 10 bis 20 % betragen. Sie war aber im allgemeinen bei der Kontrolle in Leitungswasser größer als bei den einzelnen Testlösungen. Die gemessenen Werte sowie die daraus berechneten Mittelwerte schwankten besonders bei *Spirogyra* von Tag zu Tag und schienen von äußeren Einflüssen, wie Lichtverhältnissen, Temperatur und Luftdruck, abhängig zu sein. Bei *Rhodo* traten keine derartigen Schwankungen auf. Die Kontrollwerte lagen während mehreren Wochen immer gleich. Die Versuche wurden allerdings im Verlaufe der Wintermonate und bei stets gleicher Beleuchtung ausgeführt.

Um die Meßresultate bei *Spirogyra* trotzdem vergleichen zu können, wurde, wie es GUTTENBERG und BEYTHIEN (1951) vorschlugen, der Quotient aus dem Mittelwert der Kontrolle mit Leitungswasser und jenem der einzelnen Toxinkonzentrationen berechnet.

$$Q = \frac{D_K}{D_T}$$

$D_K$  = Mittelwert der Deplasmolysezeiten der Kontrolle in Wasser

$D_T$  Mittelwert der Deplasmolysezeiten der geprüften Toxinkonzentration

Für jede Konzentration wurde  $Q$  mindestens drei- bis viermal bestimmt. Die einzelnen  $Q$ -Werte einer solchen Gruppe ergaben eine gute Übereinstimmung (vgl. Tabelle 1). Nach Definition bedeuten  $Q$ -Werte über 1,00 (die Kontrolle mit Leitungswasser wird immer gleich 1,00 gesetzt) eine Erhöhung,  $Q$ -Werte unter 1,00 eine Herabsetzung der Wasserpermeabilität.

Tabelle 1

Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhodo*-Protoplasten

Fusarinsäurekonzentration in Mol/Liter	<i>Spirogyra</i>					<i>Rhodo</i>				
	Einzelne Q-Werte				$Q_M$	Einzelne Q-Werte				$Q_M$
$5 \cdot 10^{-4}$	0,87	0,95	0,93	0,91	0,91	0,86	0,81	0,88	0,89	0,86
$5 \cdot 10^{-5}$	0,91	0,86	0,96	0,94	0,92	1,06	0,97	1,03	0,98	1,01
$5 \cdot 10^{-6}$	1,23	1,27	1,26	1,25	1,25	1,11	1,14	1,07	1,10	1,10
$5 \cdot 10^{-7}$	1,25	1,18	1,30	1,26	1,25	1,51	1,49	1,57	1,55	1,53

Nach LINDER (1951) wurde berechnet, wie groß die Differenz zwischen 1,00 und dem für jede Toxinkonzentration bestimmten Q-Wert sein muß, damit diese Differenz als statistisch gesichert betrachtet werden konnte. Für  $P = 0,01$  muß die Differenz von Q gegenüber der Kontrolle bei *Spirogyra* mindestens  $-12\%$  und  $+15\%$ , bei *Rhoeo* mindestens  $-11\%$  und  $+25\%$  betragen.

## 2. KAPITEL

### Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten

#### § 1. Störung der Wasserpermeabilität in Abhängigkeit von der Toxinkonzentration

##### Versuchsfrage:

Vermag synthetische Fusarinsäure die Wasseraufnahme von *Spirogyra* und *Rhoeo* zu beeinflussen?

##### V Versuchsergebnisse:

Bei der Beschreibung der Versuchsergebnisse sollen die beiden Objekte, *Spirogyra* und *Rhoeo*, getrennt besprochen werden (Abb. 1, Kurve I u. II).  
*Spirogyra*:

Die Störung der Wasseraufnahme durch Fusarinsäure läßt sich bei *Spirogyra* deutlich in drei Abschnitte gliedern.

1. Abschnitt: Fusarinsäurekonzentrationen  $1 \cdot 10^{-7}$  bis  $1 \cdot 10^{-5}$  molar. Hier stellen wir eine Erhöhung der Wasserpermeabilität fest, die sehr plötzlich und deutlich ausgeprägt auftritt. Sie erreicht bei  $1 \cdot 10^{-6}$  Mol/Liter mit  $+42\%$  ihr Maximum, bezogen auf die Kontrolle mit Leitungswasser.

In diesem Konzentrationsbereich kann keine Veränderung der Chloroplasten wahrgenommen werden. Eine mit Fusarinsäure vergiftete Zelle läßt sich nicht von einer unvergifteten unterscheiden.

2. Abschnitt: Dieser Bereich umfaßt die Konzentrationen  $1 \cdot 10^{-5}$  bis  $7,5 \cdot 10^{-4}$  molar. Die Wasserpermeabilität wird auf  $\frac{3}{4}$  des Kontrollwertes herabgesetzt.

Die spiralig aufgerollten Chloroplasten bleiben intakt, dehnen sich aber nicht mehr mit dem Protoplasten bis zur Zellwand aus.

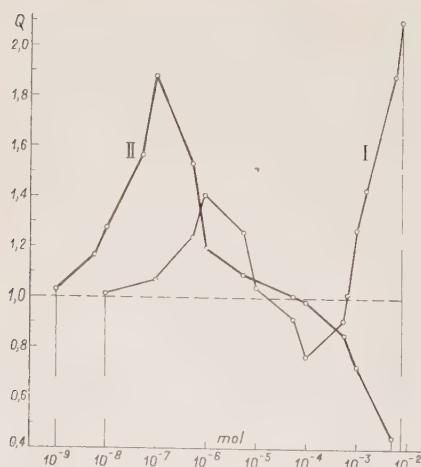


Abb. 1. Der Einfluß von Fusarinsäure verschiedener Konzentration auf die Wasserpermeabilität. I *Spirogyra*. II = *Rhoeo*. Abszisse: Toxin-konzentration. Ordinate: Q-Werte



3. Abschnitt: Fusarinsäurekonzentrationen  $7,5 \cdot 10^{-4}$  bis  $7,5 \cdot 10^{-3}$  molar. In diesem Abschnitt läßt sich mit steigender Fusarinsäurekonzentration eine starke Zunahme der Wasserpermeabilität nachweisen. Sie erreicht bei  $7,5 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter + 100 % der Kontrolle mit Leitungswasser.

Unter der Einwirkung steigender Fusarinsäurekonzentrationen lösen sich die Chloroplasten langsam auf, verlieren ihre sattgrüne Farbe und werden gelb bis leicht braun. Bei der Deplasmolyse wandern die Chloroplastenbänder an die beiden Zellenden. Die Einwirkung noch höherer Konzentrationen führt zur Koagulation des Protoplasten.

*Rhoeo*:

Auch bei *Rhoeo* lassen sich die Versuchsergebnisse in drei Abschnitte gliedern.

1. Abschnitt: Dieser erste Abschnitt umfaßt die Konzentrationen  $1 \cdot 10^{-9}$  bis  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter. Übereinstimmend mit den Ergebnissen bei *Spirogyra* tritt auch hier eine starke Erhöhung der Wasserpermeabilität auf. Sie hat ihr Maximum mit + 88 % bei  $1 \cdot 10^{-7}$  Mol/Liter. Beiderseits fällt die Wasserpermeabilität ziemlich steil ab und erreicht bei  $1 \cdot 10^{-9}$  Mol/Liter einerseits und bei  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter anderseits die Höhe der Kontrolle mit Leitungswasser.

Eine Veränderung der Protoplasten kann nicht wahrgenommen werden. Plasmolyse und Deplasmolyse sind konvex und im ganzen Schnitt außerordentlich gleichmäßig.

2. Abschnitt: Dieser zweite Abschnitt umfaßt nur einen kleinen Konzentrationsbereich ( $1 \cdot 10^{-5}$  bis  $1 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter). Die Wasseraufnahmegeschwindigkeit der *Rhoeo*-Protoplasten wird durch Fusarinsäure dieser Konzentrationen gegenüber Kontrollschnitten nicht verändert.

3. Abschnitt: Wird die Konzentration von Fusarinsäure weiterhin erhöht, so tritt ganz plötzlich eine Herabsetzung der Wasserpermeabilität ein. Sie beträgt, bezogen auf die Kontrolle mit Leitungswasser, bei  $5 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter — 14 % und erreicht bei  $5 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter — 56 %, was mehr als einer Verdoppelung der Deplasmolysezeiten entspricht.

In diesem Falle ist der Protoplast während der Deplasmolyse nicht mehr konvex; doch rundet sich der Protoplast ab, sobald er ins Deplasmolytikum gebracht wird. Neben den normal deplasmolysierenden Zellen treten auch solche auf, deren Protoplasten sich zu Beginn der Deplasmolyse noch abrunden; aber dann platzt der Protoplast, und der Vakuoleninhalt ergießt sich über die ganze Zelle. In anderen Zellen ist der Protoplast schon derart geschädigt, daß er noch plasmolysiert, aber nicht mehr deplasmolysiert. Wird die Toxinkonzentration auf  $1 \cdot 10^{-2}$  Mol/Liter erhöht, so findet keine Plasmolyse mehr statt.

Bei hohen Fusarinsäurekonzentrationen, die zum Absterben der Zellen führen, verhalten sich *Spirogyra* und *Rhoeo* also entgegengesetzt.

### Diskussion der Versuchsergebnisse

Vergleichen wir die Kurvenbilder von *Spirogyra* und *Rhoo*, so zeigt sich im ersten Bereiche ein gemeinsames Merkmal. Unter dem Einfluß von Fusarinsäure, im Konzentrationsbereich  $1 \cdot 10^{-9}$  bis  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter, wird bei beiden Objekten die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme stark erhöht. Diese Steigerung ist ganz unerwartet, wurde doch festgestellt, daß die durch Welktoxine hervorgerufene Permeabilitätsschädigung mit zunehmender Verdünnung der Toxine verschwindet (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952). Auffallend ist, daß die Steigerung der Wasseraufnahme bei beiden Objekten mit der durch Hetero-auxin hervorgerufenen Steigerung übereinstimmt (GUTTENBERG und BEYTHIEN, 1951; eigene Versuche an *Spirogyra* und *Rhoo*).

GUTTENBERG und MEINL (1952) erklärten die durch Hetero-auxin ausgelöste Steigerung der Wasseraufnahme mit einer Plasmaquellung. Der Steigerung der Wasserpermeabilität geht eine Zunahme der Atmung parallel (LOOMIS und LIPMANN, 1948). Die Wirkung von Hetero-auxin ist an aerobe Versuchsbedingungen geknüpft (BRAUNER und HASMAN, 1952). Ob es sich bei der durch Fusarinsäure ausgelösten Steigerung der Aufnahmegeschwindigkeit von Wasser um eine ähnliche Erscheinung handelt, soll im Verlaufe der Arbeit weiter untersucht werden.

Fusarinsäure wirkt im zweiten Bereiche (Konzentrationen über  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter) verschieden auf die Wasserpermeabilität der beiden Objekte. Bei *Spirogyra* wird die Herabsetzung der Wasserpermeabilität später abgelöst von einem neuen Anstieg der Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser, der das erste Maximum weit übersteigt. Bei *Rhoo* tritt in diesem Bereich nur eine Wirkung auf, nämlich eine Herabsetzung der Wasserpermeabilität. Beide Formen der Plasmaschädigung führen zur Koagulation des Protoplasmas und damit zum Tod der Zelle.

Diese Unterschiede in der Schädigung sind vielleicht damit zu erklären, daß die beiden Objekte nicht denselben Plasmotypen angehören (HÖFLER, 1950; COLLANDER und WIKSTRÖM, 1949). *Rhoo* ist ein Vertreter des amidophoben Lösungstypes. *Spirogyra* hingegen gehört auf Grund ihrer Plasmadurchlässigkeit für Harnstoff und Methylharnstoff zum amidophilen Porentyp. Nach neueren Untersuchungen gehört auch *Solanum tuberosum* zu diesem Typ (COLLANDER und WIKSTRÖM, 1949). Auf Grund dieser Feststellung dürfen vielleicht Vergleiche gezogen werden zwischen dem Verhalten von *Solanum Lycopersicum* und *Spirogyra* gegenüber Fusarinsäure.

#### § 2. Die Abhängigkeit der Permeabilitätsstörung von der Einwirkungszeit des Toxines

Bei den bisherigen Untersuchungen betrug die Toxineinwirkung 30 Minuten, in der Annahme, daß in dieser Zeit bereits eine maximale



Schädigung erreicht wird. Dies soll in einer weiteren Versuchsreihe überprüft werden. In der neuen Versuchsanordnung wurde die Einwirkungszeit des Toxines variiert. Sowohl bei *Spirogyra* als auch bei *Rhodo* wurden nur einige wichtige Toxinkonzentrationen geprüft.

### Versuchsfrage:

Wie ist die Schädigung der Wasserpermeabilität, ausgelöst durch Fusarinsäure verschiedener Konzentration, von der Einwirkungszeit des Toxines abhängig?

### V Versuchsergebnisse:

Alle Versuche (Abb. 2 und 3) zeigen, daß die maximale Schädigung bei beiden Objekten schon innert zehn Minuten erreicht wird. Eine längere Einwirkungszeit kann die Störung der

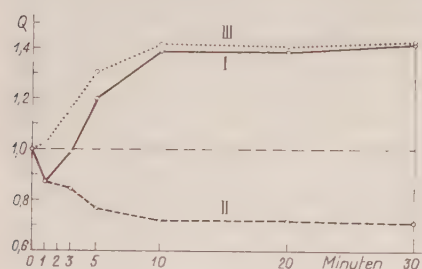


Abb. 2. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit. I = Fusarinsäure  $2,5 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter. II = Fusarinsäure  $1 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter. III = Fusarinsäure  $1 \cdot 10^{-6}$  Mol/Liter. Abszisse: Einwirkungszeit in Minuten. Ordinate: Q-Werte

Ordinate: Q-Werte

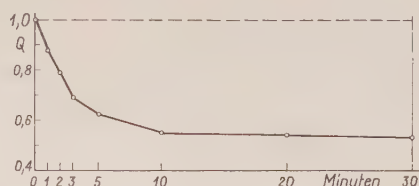


Abb. 3. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhodo* in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit. Fusarinsäure  $1 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter. Abszisse: Einwirkungszeit in Minuten. Ordinate: Q-Werte

Wasserpermeabilität nicht mehr verändern; doch können durch eine längere Toxineinwirkung Mechanismen geschädigt werden, die sich nicht auf die Wasserpermeabilität auswirken. Das zeigt sich deutlich bei *Spirogyra*. Eine  $2,5 \cdot 10^{-3}$  molare Lösung von Fusarinsäure bewirkt nach 10 Minuten die maximale Störung der Wasserpermeabilität. In diesem Zeitpunkt zeigen die Chloroplasten noch keine Schädigung. Erst bei längerer Einwirkungszeit treten auch hier Veränderungen auf. Bei *Rhodo* treten keine sichtbaren Schädigungen auf.

Eine  $2,5 \cdot 10^{-3}$  molare Lösung von Fusarinsäure löst bei *Spirogyra* nach einer Minute genau dieselbe Störung der Wasseraufnahme aus wie eine  $1 \cdot 10^{-4}$  molare Lösung. In beiden Fällen haben wir eine durch Fusarinsäure bedingte Herabsetzung der Wasserpermeabilität, die mit  $-13\%$  eben noch statistisch gesichert ist. Erst bei längerer Einwirkung von Fusarinsäure ( $2,5 \cdot 10^{-3}$  molar) steigt die Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser wieder an, erreicht nach drei Minuten wieder den Ausgangswert und nach zehn Minuten die

endgültige Höhe von + 40 %. Hier scheint es sich um mehrere Schädigungsmechanismen zu handeln, die sich gegenseitig überlagern. Offenbar besteht eine primäre Schädigung in einer Veränderung der äußern Plasmagrenzschicht (Herabsetzung der Wasserpermeabilität). Erst ein längeres Einwirken des Toxines ruft dann Schädigungen des Protoplasten hervor, die zu einer Erhöhung der Wasserpermeabilität führen.

### § 3. Die Abhängigkeit der Permeabilitätsstörung vom pH-Wert der Toxinlösung

GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL (1952) stellten fest, daß die Ausprägung der von Fusarinsäure ausgelösten Krankheitssymptome von der Wasserstoffionenkonzentration der Toxinlösung abhängig ist. Die Autoren zeigten, daß Fusarinsäure mit steigendem pH-Wert der Lösung stärker dissoziiert, und nehmen an, daß das dissoziierte Molekül nicht im gleichen Maße in die Zelle eindringen kann wie das undissoziierte Fusarinsäuremolekül. NAEF-ROTH und REUSSER (1955) stellten fest, daß auch die durch Fusarinsäure verursachte Störung des Gaswechsels ( $O_2$ -Aufnahme und  $CO_2$ -Abgabe) von Tomatenblattgewebe vom pH-Wert der Toxinlösung abhängig ist. Die durch eine Fusarinsäurelösung verursachte Schädigung sinkt mit steigendem pH-Wert der Lösung; die Schädigung ist also auch hier abhängig vom Dissoziationsgrad der Fusarinsäure. Die gleichen Beobachtungen konnten bei der Bäckerhefe, *Saccharomyces cerevisiae* Hans. gemacht werden (REUSSER und NAEF-ROTH, 1956).

Ein möglicherweise analoger Fall von selektivem Eindringungsvermögen zeigte HÖFLER (1952) am Beispiel der Vitalfärbung von Lebermoosen: die basischen Vitalfarbstoffe können nur als undissoziierte Moleküle durch das Plasma hindurch in die Vakuole eindringen. Die dissoziierten Farbstoffmoleküle werden schon vom Plasmalemma abgestoßen. Er schloß daraus, daß die undissoziierten Farbstoffmoleküle lipoidlöslich sind und auf dem Lipoidweg ins Plasma eindringen können. Die dissoziierten Farbstoffmoleküle sind als Ionen lipoidunlöslich und sind auf den Porenweg angewiesen.

#### Versuchsfrage:

Ist die schädigende Wirkung der Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten vom pH-Wert der Testlösung abhängig?

#### Versuchsmethode:

Für *Spirogyra* (SEEMANN, 1949) und *Rhoeo* (KACZMAREK, 1929) ist eine Abhängigkeit der Wasseraufnahme von der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung nachgewiesen. Bei beiden Objekten ergeben sich eingipflige Kurven, die ihr Maximum für *Spirogyra* bei pH = 7, für *Rhoeo* bei pH 4,7 bis 5,2 erreichen. Die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme fällt bei beiden Objekten nach der sauren und der alkalischen Seite hin ab. SEEMANN (1949) und KACZMAREK (1929) verwendeten für ihre Untersuchungen verschiedene Puffergemische (Phosphatpuffer nach SÖRENSEN, 1909, Citratpuffer

nach McILVAIN). Diese und andere Puffergemische (KLEIN, 1932) eigneten sich für unsere Untersuchungen nicht. Sie erwiesen sich als zu starke Plasma-gifte für die hier untersuchte Alge *Spirogyra*. Auch *Rhoeo* litt unter der Pufferwirkung; der Protoplast plasmolysiert nicht mehr konvex. Dadurch werden die Voraussetzungen für die Wirkung von Fusarinsäure ganz wesentlich verändert. Die auf diese Art gewonnenen Versuchsergebnisse könnten nicht mit den bisherigen verglichen werden.

Um die Frage der pH-Abhängigkeit der Fusarinsäureschädigung trotzdem zu untersuchen, wurden die Testlösungen mit 0,1 n NaOH oder 0,1 n HCl auf den gewünschten pH-Wert eingestellt. Bezugswert für die Berechnung von Q war bei diesen Versuchen nicht mehr die Einwirkung von Wasser, sondern diejenige von destilliertem Wasser, das mit 0,1 n NaOH oder 0,1 n HCl auf den gleichen pH-Wert eingestellt wurde wie die Toxinlösung. Die pH-Werte wurden mit einem pH-Meßgerät eingestellt (Polymetron). Vor und nach dem Einlegen der Objekte wurde der pH-Wert der Testlösung bestimmt. Dabei zeigt es sich, daß *Spirogyra* die Testlösung leicht zu verändern vermag. Im pH-Bereich 4 bis 5 erhöht sie den pH-Wert (maximal 0,4 Einheiten), im pH-Bereich 6 bis 8 wird er leicht erniedrigt (maximal 0,4 Einheiten). Wurden die Epidermisschnitte von *Rhoeo* direkt in die auf verschiedene pH-Werte eingestellten Testlösungen gelegt, so stellte sich innerhalb von 30 Minuten ein pH-Wert von 5,2 ein, dies ganz unabhängig davon, welchen pH-Wert die Lösung zu Beginn des Versuches hatte. Versuche zeigten, daß die Veränderung der pH-Werte der Testlösung durch den Inhalt der angeschnittenen Zellen verursacht wurde. Für diese Versuche wurden die Epidermisschnitte von *Rhoeo* während 12 Stunden gewässert und erst nachher in die auf verschiedene pH-Werte eingestellten Testlösungen gebracht. Wie Voruntersuchungen zeigten, verändert

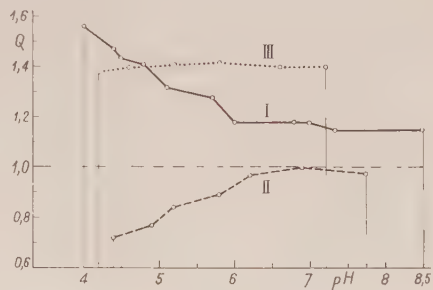


Abb. 4. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* in Abhängigkeit vom pH-Wert der Toxinlösung. I = Fusarinsäure  $2,5 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter. II = Fusarinsäure  $1 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter. III = Fusarinsäure  $1 \cdot 10^{-6}$  Mol/Liter. Abszisse: pH-Wert der Toxinlösung. Ordinate: Q-Werte

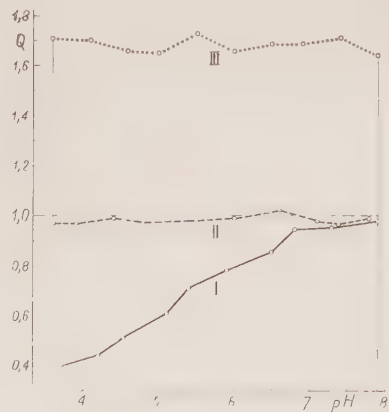


Abb. 5. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* in Abhängigkeit vom pH-Wert der Toxinlösung. I = Fusarinsäure  $1 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter. II = Fusarinsäure  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter. III = Fusarinsäure  $1 \cdot 10^{-7}$  Mol/Liter. Abszisse: pH-Wert der Toxinlösung. Ordinate: Q-Werte



ein 12stündiges Wässern die Empfindlichkeit des Plasmas für Fusarinsäure nicht. Bei dieser Versuchsanordnung verschob sich der pH-Wert der Testlösung im Verlaufe der Toxineinwirkung nur noch um höchstens 0,2 Einheiten. In den Abbildungen ist der mittlere pH-Wert, aus Anfangs- und Endwert berechnet, eingetragen.

#### Versuchsergebnisse:

Die durch Fusarinsäure ausgelöste Schädigung der Wasserpermeabilität ist bei beiden Objekten im Konzentrationsbereich über  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter vom pH-Wert der Toxinlösung abhängig. Bei *Spirogyra* nimmt die Schädigung bei  $1 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter mit steigendem pH-Wert ab und verschwindet bei pH 6. Die Schädigung einer  $2,5 \cdot 10^{-3}$  molaren Toxinlösung kann durch steigende pH-Werte gedämpft, aber nicht zum Verschwinden gebracht werden. Auch bei *Rhoeo* geht die Drosselung der Aufnahmegeschwindigkeit des Wassers bedingt durch Fusarinsäure ( $1 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter) mit steigendem pH-Wert der Toxinlösung zurück (Abb. 4 und 5).

Bei beiden Objekten ist die Veränderung der Wasseraufnahme, ausgelöst durch Fusarinsäure von Konzentrationen unter  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter, nicht vom pH-Wert der Testlösung abhängig, das heißt, der Dissoziationsgrad der Fusarinsäure ist nicht mehr ausschlaggebend. Es kann angenommen werden, daß bei so großer Verdünnung alle Fusarinsäuremoleküle dissoziiert sind, ganz unabhängig von pH-Wert der Toxinlösung. Die undissoziierten, leicht eindringenden Toxinmoleküle schädigen demnach das Protoplasma auf eine andere Art als die dissoziierten.

Die hier beschriebenen Versuchsergebnisse decken sich mit denen von NAEF-ROTH und REUSSER (1955) und REUSSER und NAEF-ROTH (1956) und bestätigen die Annahme von GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL (1952).

#### § 4. Ist die Fusarinsäureschädigung bei *Spirogyra* und *Rhoeo* reversibel?

Die bisherigen Versuche ließen die Vermutung aufkommen, daß die sowohl bei *Spirogyra* als auch bei *Rhoeo* durch große Verdünnungen von Fusarinsäure ( $1 \cdot 10^{-9}$  bis  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter) ausgelöste Erhöhung der Wasserpermeabilität eine ähnliche Ursache hat wie die unter dem Einfluß von Hetero-auxin gleicher Konzentration auftretende Erhöhung der Wasserpermeabilität (GUTTENBERG und BEYTHIEN, 1951). Die durch Hetero-auxin hervorgerufene Erhöhung der Wasserpermeabilität ist reversibel; denn sie verschwindet nach einer gewissen Zeit wieder. 24 Stunden nach der Einwirkung von Hetero-auxin ist sie abgeklungen.

Es war nachzuprüfen, ob es sich bei der Erhöhung der Wasserpermeabilität durch Fusarinsäure (Konzentrationsintervall wie oben) um eine vorübergehende oder bleibende Schädigung handelt. Zwischen der Toxineinwirkung und dem Messen der Wasserpermeabilität wurde

das Testobjekt während 24 Stunden in Leitungswasser belassen, wie das auch bei den Versuchen mit Hetero-auxin der Fall war.

### Versuchsergebnisse:

Tabelle 2 gibt die Versuchsergebnisse wieder. Sie zeigen, daß die Schädigung der Wasserpermeabilität durch Fusarinsäure, im Gegensatz zu Hetero-auxin, irreversibel ist.

Tabelle 2

Schädigung der Wasseraufnahme durch Fusarinsäure und Hetero-auxin unmittelbar nach der Toxineinwirkung und 24 Stunden später

Ablesezeit nach	<i>Spirogyra</i> Q-Werte			<i>Rhoeo</i> Q-Werte			
	Fusarinsäure		Hetero-auxin	Fusarinsäure			Hetero-auxin
	$2,5 \cdot 10^{-3}$ m.	$1 \cdot 10^{-6}$ m.	$1 \cdot 10^{-7}$ m.	$1 \cdot 10^{-3}$ m.	$1 \cdot 10^{-5}$ m.	$1 \cdot 10^{-7}$ m.	$1 \cdot 10^{-7}$ m.
0 Stunden	1,41	1,42	1,62	0,53	1,03	1,71	1,85
24 Stunden	1,43	1,42	1,05	0,54	1,02	1,70	1,02

### Diskussion der Versuchsergebnisse von Kapitel 2

Die durch Fusarinsäure ausgelöste Schädigung der Wasserpermeabilität kann am besten mit der Transpiration von vergifteten Tomatenpflanzen verglichen werden. GÄUMANN und JAAG (1947 a; 1950) unterscheiden im Verlaufe der Transpiration drei Phasen der Giftwirkung: eine Schockphase, eine Phase der Transpirationsübersteigerung und eine Lähmungsphase. Die Schockphase äußert sich in einer Drosselung der Wasseraufnahme und -abgabe unmittelbar nach Beginn der Toxineinwirkung. Auf diesen Schock folgt eine Phase der übersteigerten Transpiration, die von einer übersteigerten Wasseraufnahme begleitet sein kann. In der Lähmungsphase gehen Wasseraufnahme und -abgabe ständig zurück.

Bei der toxischen Welke, ausgelöst durch Lycomarasmin (GÄUMANN und JAAG, 1947) und Alternariasäure (GÄUMANN, KERN und SAUTHOFF, 1952), zeigt der Verlauf des Wasserhaushaltes von Tomatenpflanzen eine auffallende Übereinstimmung mit der bei *Spirogyra* durch Fusarinsäure ausgelösten Schädigung der Wasserpermeabilität. Die Transpirationskurve nimmt bei Vergiftung der Tomatenpflanze mit Fusarinsäure einen ganz ähnlichen Verlauf (mündliche Mitteilung von Dr. H. KERN).

Eine  $2,5 \cdot 10^{-3}$  molare Fusarinsäurelösung ruft bei *Spirogyra* innerhalb einer Minute eine Drosselung der Wasserpermeabilität hervor, die bei längerer Toxineinwirkung durch eine Erhöhung der Wasserpermeabilität abgelöst wird. Ausdehnung der Toxineinwirkung auf über eine Stunde führt zur Koagulation des Plasmas und damit zum Absterben der Zelle (vgl. Abb. 2, 1).

Dieser zeitliche Ablauf der Permeabilitätsstörung kann vielleicht einen Hinweis auf die Erklärung der Schockphase geben. Versuche mit Eosin

zeigten, daß sich ein in Wasser gelöster Stoff, wird er von der Pflanze aufgenommen, sehr rasch über die ganze Pflanze ausbreitet (GÄUMANN und JAAG, 1947). Das Toxin hat demnach alle Teile der Pflanze erreicht, lange bevor die Schockphase durch eine Übersteigerung des Wasserumsatzes abgelöst wird.

In beiden erwähnten Fällen (Transpiration einer vergifteten Tomatenpflanze und Störung der Wasserpermeabilität bei *Spirogyra*) handelt es sich um eine Herabsetzung der Wasseraufnahme und -abgabe. Da diese mit dem Beginn der Toxineinwirkung auftritt, muß sie durch eine Reaktion der Toxine an den äußern Plasmagrenzschichten ausgelöst sein. Sie kann ihre Ursache in einem rein physikalischen Verstopfen der Plasmagrenzschichten oder in einer Schädigung von Stoffwechselvorgängen haben, die an der Oberfläche des Protoplasten ablaufen und den Wasserhaushalt der Zelle kontrollieren.

Auf die Herabsetzung der Wasseraufnahme und -abgabe folgt bei beiden Objekten eine Übersteigerung derselben, die aber erst nach längerer Toxineinwirkung auftritt. Lange Einwirkungszeiten machen es möglich, daß sich die Toxinmoleküle in der Zelle anhäufen, das Plasma in der Tiefe schädigen und die Wasserpermeabilität stören. Ob die von LINSKENS (1955) nachgewiesene Lyse von Proteinen die Permeabilität der Protoplasten verändert, oder ob noch andere Schädigungen als Ursache auftreten, konnte im Verlaufe dieser Untersuchungen nicht abgeklärt werden.

Kann eine  $2,5 \cdot 10^{-3}$  molare Toxinlösung länger als eine Stunde auf *Spirogyra* einwirken, so koaguliert der Protoplast, und die Zelle stirbt ab. Dasselbe gilt wohl auch für die vergiftete Tomatenpflanze. Eine große Zahl von abgestorbenen Zellen wird als Nekrose sichtbar.

In der Lähmungsphase gehen Wasseraufnahme und -abgabe ständig zurück, wobei die Wasserabgabe immer über der Wasseraufnahme liegt. Diese Erscheinung kann wohl damit erklärt werden, daß immer größere Gewebestücke der Pflanze abgestorben sind und kein Wasser mehr umsetzen.

Bei *Rhoeo* führt nicht, wie bei *Spirogyra*, eine Erhöhung der Wasserpermeabilität, sondern eine Herabsetzung derselben zum Absterben der Zelle. Auch bei diesem Objekt darf eine vom Tonoplasten her in die Tiefe fortschreitende Schädigung angenommen werden, da unter dem Einfluß von Toxinkonzentrationen über  $5 \cdot 10^{-4}$  Mol Liter immer häufiger Protoplasten im Verlaufe der Deplasmolyse platzen. Die innere Plasmamembran (Tonoplast) ist in diesem Falle noch weniger geschädigt als das Mesoplasma und das Plasmalemma. Diese beiden Plasmaschichten reißen in hypotonischen Lösungen, da sie die Ausdehnung des Tonoplasten nicht mehr mitmachen können.

Die hier beschriebene Störung der Wasserpermeabilität durch Fusarinsäure ist sicher eine Ursache für das Auftreten von Nekrosen an vergifteten Pflanzen, doch kann auch sie nicht den ganzen Vorgang der Giftwirkung erklären.



## 3. KAPITEL

Der Einfluß einiger mit Fusarinsäure verwandter Pyridinderivate auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten

## 1. Pyridinderivate mit verschiedenartigen Seitenketten

GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL (1952) prüften bei ihren Untersuchungen über die Fusarinsäure auch chemisch verwandte Stoffe auf ihre toxische Wirkung auf Tomatensprosse. So wurden neben Fusarinsäure (5 n-Butylpyridin-2-carbonsäure)  $\alpha$ -Picolinsäure (Pyridin-2-carbonsäure), 5-Ethyl-pyridin-2-carbonsäure, 5 n-Hexyl-pyridin-2-carbonsäure und Nicotinsäure (Pyridin-3-carbonsäure) dem Welketest unterworfen. Die Ergebnisse zeigten, daß die dosis minima für Tomatensprosse mit zunehmender Länge der Seitenkette am Pyridinring steigt, die Giftigkeit also abnimmt. Bei Nicotinsäure liegt die dosis minima bedeutend höher als bei den andern geprüften Pyridinderivaten.

§ 5. Pyridin,  $\alpha$ -Picolinsäure und 3 n-Butyl-pyridin

SANWAL (1956) konnte nachweisen, daß die der Pflanze applizierte Fusarinsäure innert kürzester Frist verändert wird. Verabreichte er der Pflanze Fusarinsäure, die in der Säuregruppe mit einem radioaktiven C-Atom markiert ist, so zeigte sich, daß etwa 10% davon innert weniger Stunden dekarboxyliert werden. Als mögliches Abbauprodukt vermutete er 3 n-Butyl-pyridin; doch gelang es bis jetzt noch nicht, 3 n-Butyl-pyridin in der Pflanze nachzuweisen.

Im vorliegenden Versuch soll deshalb der Einfluß verschiedener Spaltprodukte von Fusarinsäure, nämlich Pyridin,  $\alpha$ -Picolinsäure und 3 n-Butyl-pyridin, auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten untersucht werden. Die Versuchsanordnung ist dieselbe wie bisher.



## Versuchsfrage:

Wie beeinflussen Pyridin,  $\alpha$ -Picolinsäure und 3 n-Butyl-pyridin die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten?

## Versuchsergebnisse:

*Spirogyra*:

Pyridin: Wie der Verlauf der Plasmaschädigung zeigt (Abb. 6, I), kann Pyridin die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* nur in sehr großer Verdünnung verändern. Pyridin in

Konzentrationen zwischen  $1 \cdot 10^{-8}$  und  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol Liter vermag die Wasserpermeabilität in demselben Maße zu erhöhen, wie das auch bei Fusarinsäure der Fall ist. Die Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser erreicht bei  $5 \cdot 10^{-7}$  Mol Liter mit  $+48\%$  ihr Maximum. Unter dem Einfluß von höheren Konzentrationen hingegen verändert sich die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*-Protoplasten nicht.

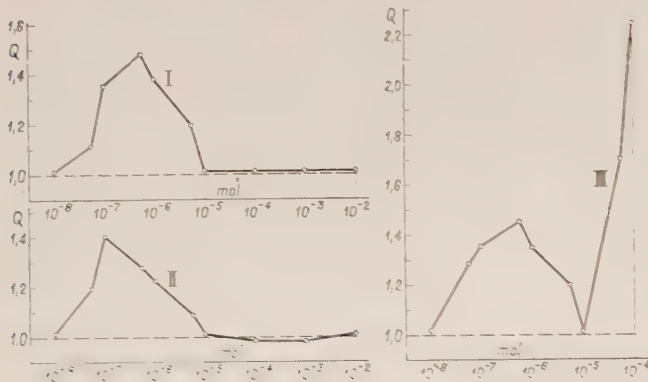


Abb. 6. Der Einfluß von Pyridin (I),  $\alpha$ -Picolinsäure (II) und 3n-Butyl-pyridin (III) auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*.

Abszisse:  
Toxinkonzentration.

Ordinate:  
Q-Werte

**$\alpha$ -Picolinsäure:** Die durch  $\alpha$ -Picolinsäure verursachte Änderung der Wasserpermeabilität entspricht genau derjenigen von Pyridin (Abb. 6, II). Unter dem Einfluß von  $\alpha$ -Picolinsäure tritt im Konzentrationsbereich  $1 \cdot 10^{-8}$  bis  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol Liter eine Beschleunigung der Wasseraufnahme auf, die bei  $1 \cdot 10^{-7}$  Mol Liter mit  $+40\%$  ihr Maximum erreicht. Eine Wirkung höherer Konzentrationen von  $\alpha$ -Picolinsäure auf die Wasserpermeabilität ist nicht festzustellen.

**3n-Butyl-pyridin:** Wie aus Abbildung 6, III hervorgeht, verändert 3n-Butyl-pyridin die Wasseraufnahme von *Spirogyra*-Protoplasten in ganz ähnlicher Art wie Fusarinsäure. Unter der Einwirkung von Konzentrationen zwischen  $1 \cdot 10^{-8}$  und  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol Liter tritt, wie das bei Fusarinsäure und den andern bisher geprüften Pyridinderivaten der Fall ist, eine Beschleunigung der Wasseraufnahme auf, die bei  $5 \cdot 10^{-7}$  Mol Liter mit  $+45\%$  das Maximum erreicht. Wird die Konzentration von 3n-Butyl-pyridin über  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol Liter erhöht, so tritt als Folge der Vergiftung eine erneute starke Erhöhung der Wasserpermeabilität auf, die bei  $1 \cdot 10^{-4}$  Mol Liter  $+125\%$  beträgt. Wird das Testobjekt höheren Toxinkonzentrationen ausgesetzt, so koagulieren die Protoplasten.

Im Verlaufe der ersten Permeabilitätsstörung, die unter dem Einfluß von Konzentrationen zwischen  $1 \cdot 10^{-8}$  und  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol Liter auftritt, ist bei keinem der bis jetzt geprüften Pyridinderivate eine Veränderung der Chloroplasten wahrzunehmen. Bei Versuchen mit Pyridin und  $\alpha$ -Picolinsäure ergibt sich auch bei höheren Konzentrationen keine sichtbare Schädigung. Bei der Verwendung von 3n-Butyl-pyridin hingegen verfärbten sich die Chloroplasten unter der Einwirkung von höheren Konzentrationen, werden gelb,

dann hellbraun und können sich nicht mehr mit dem Protoplasten bis zur Zellwand ausdehnen.

*Rhoeo*:

**Pyridin:** Pyridin (Abb. 7, I) steigert bei *Rhoeo* die Wasserpermeabilität im Konzentrationsbereich  $1 \cdot 10^{-8}$  bis  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter. Das Maximum von + 85 % wird durch die Einwirkung einer  $1 \cdot 10^{-7}$  molaren Toxinlösung erreicht. Beiderseits fällt die Kurve steil ab. Die Wasseraufnahme von *Rhoeo*-Protoplasten wird durch Konzentrationen über  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter gegenüber den Kontrollen nicht verändert.

**$\alpha$ -Picolinsäure:**  $\alpha$ -Picolinsäure bewirkt bei *Rhoeo* die gleichen Veränderungen der Wasserpermeabilität wie Pyridin (Abb. 7, II). Das Maximum von + 90 % wird durch eine  $1 \cdot 10^{-7}$  molare Lösung hervorgerufen.

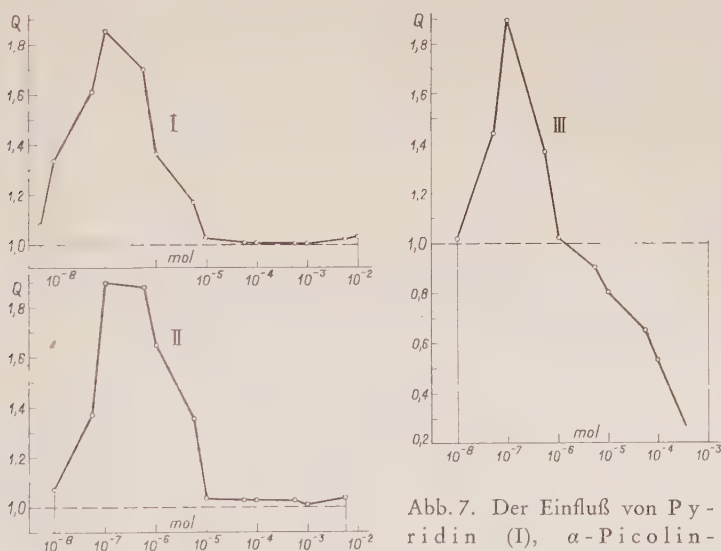


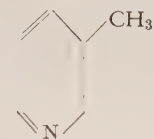
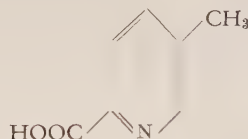
Abb. 7. Der Einfluß von Pyridin (I),  $\alpha$ -Picolinsäure (II) und 3-n-Butylpyridin (III) auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*. Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

**3-n-Butylpyridin:** Abbildung 7, III, zeigt, daß im Bereiche kleiner Toxinkonzentrationen die Kurve gleich verläuft wie bei den andern geprüften Substanzen. Unter dem Einfluß von Konzentrationen über  $1 \cdot 10^{-6}$  Mol/Liter hingegen wird die Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser stark herabgesetzt. Die Drosselung erreicht bei einer Toxinkonzentration von  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter — 20 %, bei einer  $1 \cdot 10^{-4}$  molaren 3-n-Butylpyridinlösung — 47 %. Wird die Konzentration von 3-n-Butylpyridin weiter erhöht, so wird die Herabsetzung der Wasseraufnahme und -abgabe so stark, daß die Protoplasten sichtbar geschädigt sind. Nur ein Teil der Protoplasten kann noch plasmolysieren; der Vorgang ist aber irreversibel.



## § 6. $\beta$ -Picolin und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure

Versuchsreihe 5 führt auf die Vermutung, daß die n-Butyl-Gruppe in  $\beta$ -Stellung der für die Protoplasten von *Rhoeo* und *Spirogyra* giftige Bestandteil des Fusarinsäuremoleküls ist. Die Aufgabe dieser Versuchsreihe ist es, diese Frage weiter zu verfolgen. Zu diesem Zwecke werden noch andere Substanzen,  $\beta$ -Picolin und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure, auf ihre Einwirkung auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten untersucht. Die beiden Substanzen unterscheiden sich dadurch von 3 n-Butyl-pyridin und Fusarinsäure, daß die n-Butyl-gruppe durch eine Methyl-gruppe ersetzt worden ist.

 $\beta$ -Picolin

5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure

### Versuchsfrage:

Wie beeinflussen  $\beta$ -Picolin und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten?

### V Versuchsergebnisse:

Wie Abb. 8 und 9 zeigen, vermögen weder  $\beta$ -Picolin (Kurve I) noch 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure (Kurve II) in Konzentrationen über  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter die Wasserpermeabilität der beiden Testobjekte zu verändern.

### Diskussion der Versuchsergebnisse:

Vergleichen wir die Ergebnisse der fünften und sechsten Versuchsreihe mit jenen von Fusarinsäure, so läßt sich folgendes festhalten:

1. Toxinkonzentrationen zwischen  $1 \cdot 10^{-8}$  und  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter lösen bei allen bisher geprüften Pyridinderivaten eine Erhöhung der Wasserpermeabilität aus. Diese ist durch den Pyridinring allein bedingt; denn Pyridin kann sowohl bei *Spirogyra* als auch bei *Rhoeo* innerhalb dieser Konzentrationen genau dieselbe Reaktion hervorrufen. In den geprüften Substanzen bildet der Pyridinring das Grundgerüst. Es wäre zu prüfen, ob diese Wirkung durch das im Ring enthaltene Stickstoffatom verursacht wird. Als vergleichende Modellsubstanzen könnten Benzol, Pyran und Thiopyran herangezogen werden.

2. Die Säuregruppe in  $\alpha$ -Stellung hat auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* und *Rhoeo* keinen Einfluß. Ob das allgemein für eine Säuregruppe am Pyridinring gilt, läßt sich aus diesen und den mit Nicotinsäure und Iso-nicotinsäure ausgeführten Versuchen, über die an anderer Stelle berichtet werden soll, nichts aussagen.

3. Die n-Butyl-gruppe in  $\beta$ -Stellung ist nach den bisherigen Versuchen die Gruppe des Fusarinsäuremoleküls, die den Protoplasten bei höheren Konzentrationen schädigt. 3n-Butyl-pyridin löst bei beiden Objekten im Bereiche von Konzentrationen über  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter dieselbe Veränderung der Wasserpermeabilität aus wie Fusarinsäure (vergleiche Abb. 1). Da die Säuregruppe in  $\alpha$ -Stellung in diesem Konzentrationsbereich die Wasserpermeabilität bei beiden Ob-

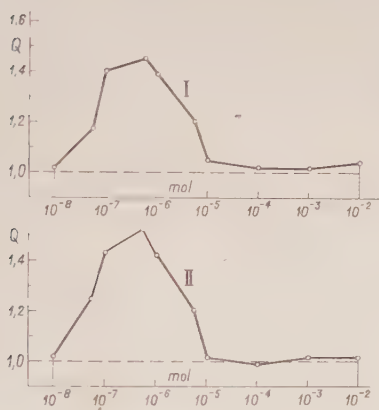


Abb. 8. Der Einfluß von  $\beta$ -Picolin (I) und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure (II) auf die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*. Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

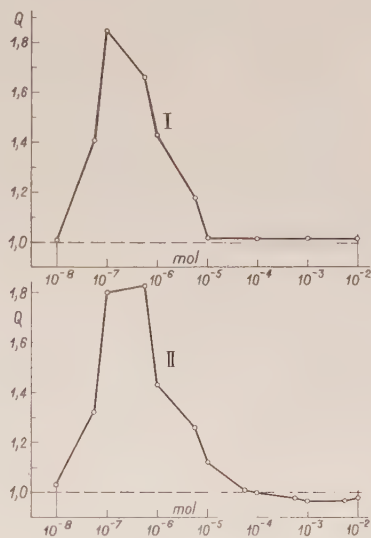


Abb. 9. Der Einfluß von  $\beta$ -Picolin (I) und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure (II) auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*. Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

jekten nicht verändert, kann die durch Fusarinsäure ausgelöste Schädigung der Wasserpermeabilität nur durch die n-Butyl-gruppe in  $\beta$ -Stellung bedingt sein. Die Versuche mit  $\beta$ -Picolin und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure (Abb. 8 und 9) bestätigen diese Vermutung. Wird bei Fusarinsäure die n-Butyl-gruppe durch eine Methyl-gruppe ersetzt, so tritt in Konzentrationen über  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter keine Schädigung der Wasserpermeabilität mehr auf. Dasselbe Resultat erhalten wir, wenn bei 3n-Butyl-pyridin die n-Butyl-gruppe durch eine Methyl-gruppe ersetzt ist. Diese Tatsache stimmt mit den von SANWAL (1956) aufgestellten Vermutungen überein, wonach nicht die Fusarinsäure, sondern das durch Decarboxylierung entstandene 3n-Butyl-pyridin das eigentliche toxische Produkt ist. Ob dabei die Stellung der n-Butyl-gruppe am Ring von Bedeutung ist, konnte nicht untersucht werden.

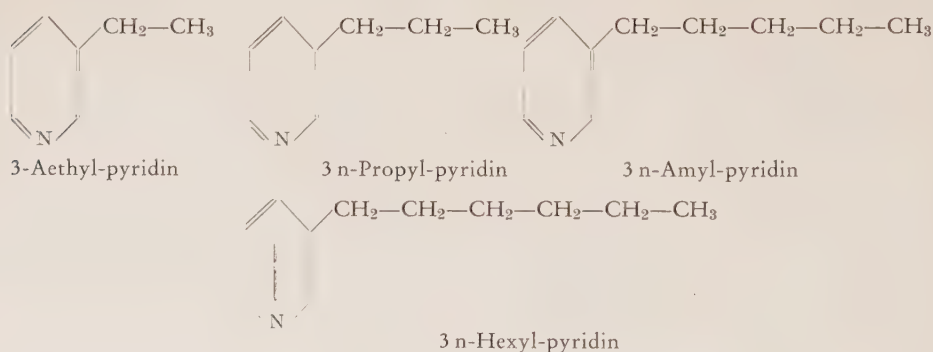
## 2. Pyridinderivate mit verschieden langer Seitenkette in $\beta$ -Stellung

### § 7. Die Abhängigkeit der biologischen Aktivität von Pyridin-Derivaten von der Länge der aliphatischen Seitenkette in $\beta$ -Stellung

Die bisherigen Versuche zeigten, daß die n-Butyl-gruppe in  $\beta$ -Stellung der Bestandteil des Fusarinsäuremoleküls ist, der die Wasserpermeabilität von *Spirogyra* und *Rhoeo* in höheren Konzentrationen verändert. Abb. 8 und 9 haben gezeigt, daß die Giftigkeit der Fusarinsäure verschwindet, wenn die n-Butyl-gruppe durch eine Methyl-gruppe ersetzt wird. Die Vermutung lag deshalb nahe, daß die Toxizität der Pyridin-monocarbonsäure mit zunehmender Länge der aliphatischen Seitenkette in  $\beta$ -Stellung steigt. In der folgenden Versuchsreihe soll diese Frage abgeklärt werden. Die für diese Versuchsreihe benötigten Substanzen wurden mir in liebenswürdiger Weise von Herrn Dr. E. HARDEGGER vom Organisch-chemischen Institut der E.T.H. hergestellt.

#### Versuchsfrage:

Wie beeinflussen 3-Aethyl-pyridin, 3n-Propyl-pyridin, 3n-Amyl-pyridin und 3n-Hexyl-pyridin die Wasserpermeabilität von *Spirogyra*- und *Rhoeo*-Protoplasten?



#### V Versuchsergebnisse:

Die Ergebnisse zeigen deutlich, daß mit zunehmender Länge der aliphatischen Seitenkette in  $\beta$ -Stellung die Schädigung der Wasserpermeabilität der beiden Objekte unter dem Einfluß einer bestimmten höheren Toxinkonzentration stark zunimmt. Die Ergebnisse von Pyridin,  $\beta$ -Picolin und 3n-Butyl-pyridin sind schon vorher besprochen worden (Abb. 6, I und III; Abb. 7, I und III; Abb. 8, I; Abb. 9, I). In Abb. 10 sind jene Konzentrationen eingetragen, unter deren Einwirkung bei *Spirogyra* (Kurve I) die Erhöhung der Wasserpermeabilität mehr als + 100 %, bei *Rhoeo* (Kurve II) der Rückgang der Wasserpermeabilität mehr als — 40 % ausmacht. Bei *Spirogyra* nimmt die Giftigkeit mit steigender Zahl von C-Atomen in der Seitenkette von Methyl- bis n-Hexyl-pyridin konstant zu. Bei *Rhoeo* hingegen steigt die Toxizität nur bis zur Butyl-Gruppe (4 C-Atome) und bleibt bei n-Amyl- und n-Hexyl-



pyridin konstant. Offenbar wird bei *Rhoeo* mit der n-Butyl-Gruppe ein Maximum der Schädigung erreicht. Bei *Spirogyra* hingegen scheint das Maximum an Schädigung mit 6 C-Atomen in der aliphatischen Seitenkette noch nicht erreicht zu sein.

### 3. Schädigt Fusarinsäure die Wasserpermeabilität durch die Bildung von Metallchelaten?

Japanische Forscher (TAMARI und KAJI, 1952) berichteten, daß die Wirkung veresterter Fusarinsäure auf die Katalase- und Peroxydase-Aktivität auf einen kleinen Bruchteil absinkt, verglichen mit der Wirkung von Fusarinsäure. Auf Grund dieser Ergebnisse vermuteten sie, daß die Schädigung der pflanzlichen Zelle durch eine Chelatbildung der Fusarinsäure zustande kommt. Sie nahmen an, daß die Fusarinsäure mit den Schwermetallionen der Enzyme Komplexe bilde, sie damit dem betreffenden Enzym entziehe und so dieses inaktiviere. DEUEL (1955) spricht der Fusarinsäure und anderen Pyridincarbonsäuren ein starkes Komplexbildungsvermögen zu. Durch die Veresterung der Säuregruppe wird die Chelatbildung unmöglich. Meine bisherigen Versuche schließen einen Einfluß der Komplexbildung auf die Wasserpermeabilität nicht aus, machen ihn aber sehr unwahrscheinlich. Versuche mit  $\alpha$ -Picolinsäure zeigten ja, daß die Säuregruppe in  $\alpha$ -Stellung die Wasserpermeabilität bei keinem der beiden Objekte beeinflusst (vgl. Abb. 6 und 7); doch ist bis jetzt nicht erklärlich, warum Fusarinsäure die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* im Konzentrationsbereich  $1 \cdot 10^{-5}$  bis  $1 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter nicht verändert.

### § 8. Fusarinsäure-äthylester

In einem weiteren Versuch wird der Einfluß von Fusarinsäure-äthylester auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten untersucht.

#### Versuchsfrage:

Wie beeinflusst Fusarinsäure-äthylester die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten?

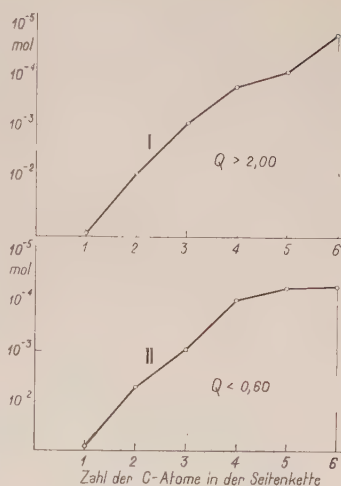
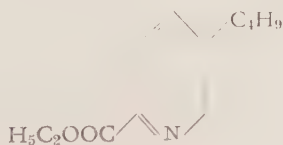


Abb. 10. Die Abhängigkeit der biologischen Aktivität von Pyridinderivaten von der Länge der aliphatischen Seitenkette in  $\beta$ -Stellung. Abszisse: Anzahl der C-Atome der aliphatischen Seitenkette. Ordinate: Kurve I: Toxinkonzentration, bei der die Q-Werte von *Spirogyra* über 2,00 liegen. Kurve II: Toxinkonzentration, bei der die Q-Werte von *Rhoeo* unter 0,60 liegen

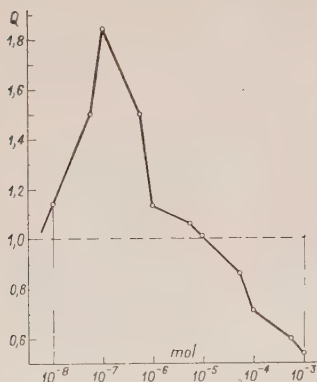


Abb. 11. Der Einfluß von Fusarinsäure-äthylester auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*. Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

### Versuchsergebnisse:

Das Versuchsergebnis ist in Abbildung 11 dargestellt. Das Ausmaß der durch Fusarinsäure-äthylester verursachten Drosselung der Wasseraufnahme liegt genau zwischen der durch Fusarinsäure und der durch 3n-Butyl-pyridin ausgelösten Drosselung (vgl. Abb. 1 und 7). Die Einwirkung einer möglichen Chelatbildung auf die Wasserpermeabilität kann deshalb weder verneint noch bejaht werden.

Andererseits lassen am gleichen Objekt ausgeführte Versuche mit Lycomarasmin und Komplexon III vermuten, daß das Komplexbildungsvermögen der Toxine keinen Einfluß auf die Wasserpermeabilität hat (über die Ergebnisse dieser Versuche wird später berichtet).

### Diskussion der Versuchsergebnisse von Kapitel 3

Die bisherigen Versuche bestätigen die von SANWAL (1956) geäußerte Vermutung, wonach 3n-Butyl-pyridin das eigentliche Toxin ist, das in der Pflanze durch Decarboxylierung der Fusarinsäure entsteht. Die n-Butyl-gruppe in  $\beta$ -Stellung ist die einzige Gruppe des Fusarinsäuremoleküls, die in Konzentrationen über  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter die Wasserpermeabilität der beiden Objekte schädigt. Weder der Pyridinring noch die Säuregruppe in  $\alpha$ -Stellung vermögen die Wasserpermeabilität in diesem Konzentrationsbereich zu verändern. Vergleicht man die in diesem Konzentrationsbereich durch Fusarinsäure (Abb. 1) und 3n-Butyl-pyridin (Abb. 6, III und 7, III) ausgelösten Schädigungen der Wasserpermeabilität, so ist 3n-Butyl-pyridin rund 100mal giftiger als Fusarinsäure; es ist dies eine Differenz in der Toxizität, die niemals mit der Dissoziation der Fusarinsäure erklärt werden kann.

OVERTON (1895) weist darauf hin, daß ein Stoff die Plasmamembran um so besser durchdringt, je lipophiler er ist. 3n-Butyl-pyridin ist bedeutend schlechter wasserlöslich als Fusarinsäure; es kann nur mit Hilfe von Äthanol in Wasser gelöst werden. Die erhöhte Lipoidlöslichkeit von 3n-Butyl-pyridin im Vergleiche zu Fusarinsäure ermöglicht es vielleicht diesem Stoff, schneller in die Zelle einzudringen und den Protoplasten zu schädigen, als dies für Fusarinsäure der Fall ist. Genaue Angaben darüber können aber weder mit *Spirogyra* noch mit *Rhoeo* erhalten werden.

OVERTONS Lipoidtheorie kann vielleicht auch einen Hinweis darauf geben, warum Pyridin-homologe die Wasserpermeabilität der

beiden Objekte mit zunehmender Länge der aliphatischen Seitenkette stärker schädigen. Mit zunehmender Länge der aliphatischen Seitenkette steigt die Lipoidlöslichkeit der Substanzen und parallel dazu das Eindringungsvermögen. Auch in diesem Falle kann aber keine sichere Aussage gemacht werden, da die Anzahl der ins Plasma eingedrungenen Moleküle nicht bestimmt werden kann.

#### 4. KAPITEL

##### Der Einfluß von Fusarinsäure auf die nicht-osmotische Stoffaufnahme

Die quantitative Auswertung von Plasmolyse- und Deplasmolyseversuchen erfolgt nach der osmotischen Zustandsgleichung

$$G = \frac{O}{C}$$

$G$  = Plasmolysegrad der Zelle  
 $O$  = osmotischer Wert des Zellsaftes  
 $C$  = osmotischer Wert des Plasmolytikums

Untersuchungen von BOGEN (1950), BOGEN und PRELL (1953) und PRELL (1953) zeigten, daß der Plasmolysegrad  $G$  einer Zelle durch das Verhältnis  $O/C$  nicht genügend definiert ist. Der theoretisch berechnete und experimentell gemessene Plasmolysegrad und die daraus bestimmbaren Permeabilitätskonstanten deckten sich in keinem der von ihnen geprüften Fälle. Die Differenzen führten zur Aufdeckung eines „osmotisch nicht veränderlichen Volumenanteils“ und ließen vermuten, daß neben der osmotischen Stoffaufnahme auch noch andere, von BOGEN (1950) als meta- und nicht-osmotisch bezeichnete Aufnahmemechanismen vorhanden sein müssen. Ähnliche Prozesse vermutete LUNDEGÄRDH (1950) bei der Ionenaufnahme. REINDERS (1942) und HACKETT und THIMANN (1950; 1952) diskutierten die Existenz nichtosmotischer Potentiale bei der Steigerung der Wasserpermeabilität durch Hetero-auxin.

BOGEN und PRELL (1953) teilten die Stoffaufnahme in mindestens drei Komponenten auf:

##### 1. Osmotische Stoffaufnahme

Sie stellt die rein permeatorische Stoffaufnahme, ausgelöst durch eine Konzentrationsdifferenz beiderseits der Plasmagrenzschichten, dar, wobei alle aufgenommenen Substanzen an der Einstellung des osmotischen Gleichgewichtes beteiligt sind.

##### 2. Meta-osmotische Stoffaufnahme

Bei der meta-osmotischen Stoffaufnahme handelt es sich um Vorgänge, die nach dem osmotischen Stoffeintritt in die Vakuole ablaufen. Durch Adsorption und chemische Bindung der aufgenommenen Stoffe an Kolloide in der Vakuole und Plasmaproteine des Tonoplasten werden diese dem osmotischen Gleichgewicht entzogen. In diesem Moment stehen sie beim Ausgleich des osmotischen Konzentrationspotentials nicht mehr zur Verfügung und müssen ständig ersetzt werden.



Dieser Vorgang entspricht keinem neuen Aufnahmemechanismus; die Bezeichnung meta-osmotisch ist deshalb nicht richtig. Durch die Bindung osmotisch wirksamer Substanzen wird ja bloß die Potentialdifferenz erhöht und damit der gewöhnliche osmotische Austausch gefördert.

### 3. Nicht-osmotische Stoffaufnahme

Transportmechanismus ist nicht die Diffusion, sondern ein System von „carrier“-Molekülen (GOLDACRE, 1952). Dabei werden die aufzunehmenden Moleküle vorübergehend an Proteine gebunden und so ins Zellinnere gebracht. Für die nicht-osmotische Stoffaufnahme ist Energie nötig, die durch Stoffwechselvorgänge geliefert werden muß. Der Transport kann in diesem Falle auch gegen ein Konzentrationsgefälle erfolgen. Ionen (LUNDEGÄRDH, 1950), Anelektrolyte (LE FÈVRE und LE FÈVRE, 1950) und Wasser (HACKETT und THIMANN, 1950) können auf diesem Wege aufgenommen werden.

In einer weiteren Arbeit versuchte BOGEN (1953) abzuklären, welche Enzymsysteme des Stoffwechsels an der nicht-osmotischen Aufnahme von Wasser beteiligt sind. Er stützte sich dabei auf die von HACKETT und THIMANN (1952) angestellten Untersuchungen über den Einfluß von Heteroauxin auf die Wasseraufnahme von pflanzlichem Speichergewebe. Zu diesem Zwecke setzte er dem Plasmolytikum nach Beginn der Plasmolyse Stoffwechselgifte zu und beobachtete das weitere Verhalten der Protoplasten. Veränderte sich der Protoplast, so zeigte das, daß die durch das Blockierungsmittel inaktivierte Gruppe von Enzymsystemen an der nicht-osmotischen Wasseraufnahme und -abgabe beteiligt ist.

Im vorliegenden Kapitel wird untersucht, ob die nicht-osmotische Wasseraufnahme durch Fusarinsäure beeinflusst wird. Zu diesem Zwecke wurden bei *Rhoeo* mit Stoffwechselgiften, wie sie in der Enzymforschung verwendet werden, die gewünschten Enzymgruppen blockiert. Nachher wurden die Zellen der Einwirkung verschiedener Toxinkonzentrationen ausgesetzt. Erst jetzt wurde die Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser bestimmt. Verschwindet bei diesem Vorgehen ein Teil der bekannten Toxinwirkung, so kann daraus geschlossen werden, daß in diesem Konzentrationsbereich ein Einfluß des Toxines auf die blockierte Enzymgruppe vorhanden ist. Daß Fusarinsäure die nicht-osmotische Stoffaufnahme beeinflusst, war anzunehmen, da NAEF-ROTH und REUSSER (1955) und REUSSER und NAEF-ROTH (1956) zeigten, daß Fusarinsäure den Gaswechsel sowohl von Tomatenblattgewebe als auch von Bäckerhefe zu hemmen vermag.

### § 9. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Cytochrom-Oxydase

Natriumazid hemmt oxydative Fermente, die Eisen als Katalysator enthalten. HOFFMANN-OSTENHOFF (1954) und BOGEN (1953) geben an, daß speziell die Cytochrom-Oxydase durch Natriumazid blockiert werde. Es ist aber noch nicht abgeklärt, ob Natriumazid auf ungeschädigte Pflanzenzellen ebenso spezifisch wirkt wie

auf Enzympräparate. BOGEN (1953) zeigte, daß Natriumazid  $1 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* und *Taraxacum* erhöht, und schloß daraus, daß die Atmung an der nicht-osmotischen Wasseraufnahme mitbeteiligt ist.

Um für unsere Versuche Vergleichswerte zu erhalten, wurde mit der bisher angewandten Methode der Einfluß von Natriumazid verschiedener Konzentration auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* untersucht.

Tabelle 3  
Einfluß von Natriumazid auf die Wasserpermeabilität  
von *Rhoeo*

NaN <sub>3</sub> Konzentr. Mol/Liter	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-5}$
Q-Werte	2,13	1,77	1,54	1,32	1,04	1,07	1,02

Die in Tabelle 3 angegebenen Werte stellen die Mittelwerte aus vier Parallelversuchen dar. Wie die Versuchsergebnisse zeigen, steigert Natriumazid in höheren Konzentrationen die Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser und führt bei Einwirkung von Konzentrationen über  $1 \cdot 10^{-2}$  Mol/Liter durch Koagulation des Plasmas zum Zelltod.

#### Versuchsfrage:

Ändert eine vorausgehende Blockierung der Cytochrom-Oxydase durch Natriumazid die bekannte Wirkung von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten?

#### Methode:

Für die Versuche wird eine  $1 \cdot 10^{-3}$  molare Lösung von Natriumazid verwendet, die eine Erhöhung der Wasserpermeabilität von + 50 % hervorruft. Die Schnitte der Blattepidermis von *Rhoeo* werden zuerst für 30 Minuten in eine  $1 \cdot 10^{-3}$  molare Lösung von Natriumazid gelegt und erst nachher dem Einfluß der Fusarinsäure verschiedener Konzentration ausgesetzt. Ein Teil der mit Natriumazid behandelten Schnitte wird als Kontrolle verwendet.

#### V Versuchsergebnisse:

Abbildung 12, I zeigt, wie die Wirkung der Fusarinsäure durch die Blockierung der Cytochrom-Oxydase beeinflusst wird. Die erhöhte Geschwindigkeit der Wasseraufnahme, ausgelöst durch Konzentrationen von  $1 \cdot 10^{-8}$  bis  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter, bleibt in vollem Umfange erhalten. Dagegen verschwindet die durch höhere Konzentrationen bedingte Drosselung der Wasserpermeabilität vollständig. Sogar nach der Einwirkung einer Toxinkonzentration von  $5 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter beträgt die Differenz der Wasserpermeabilität gegenüber der Kontrolle nur — 4 %.

Stimmt die vorher aufgestellte Hypothese, wonach die unter dem Einfluß hoher Fusarinsäurekonzentrationen festgestellte Herabsetzung der Wasserpermeabilität durch die *n*-Butyl-gruppe bedingt ist, so ist zu erwarten, daß nach Blockierung

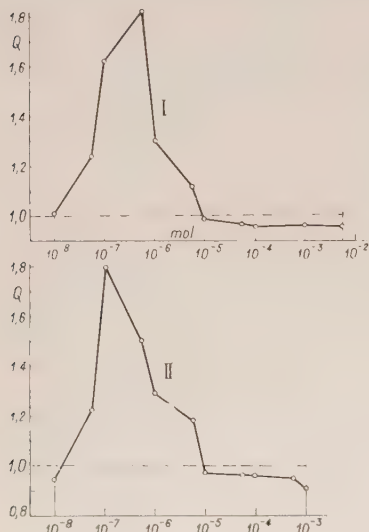


Abb. 12. Der Einfluß von Fusarinsäure (I) und 3n-Butyl-pyridin (II) auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* nach Blockierung der Cytochrom-Oxydase mit Hilfe von Natriumazid ( $1 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter). Abszisse: Toxinkonzentration. Ordinate: Q-Werte

der Cytochrom-Oxydase auch die durch 3n-Butyl-pyridin in hohen Konzentrationen verursachte Drosselung der Wasserpermeabilität verschwindet (beide aliphatischen Seitenketten sind gleich).

Abbildung 12, II stellt das Ergebnis einer Reihe von Versuchen mit 3n-Butyl-pyridin dar. Die durch geringe Konzentrationen hervorgerufene Erhöhung der Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser bleibt voll erhalten. Weiter verschwindet auch hier die sonst unter dem Einfluß höherer Toxinkonzentrationen auftretende Herabsetzung der Wasserpermeabilität.

Die *n*-Butyl-Gruppe vermag also, vielleicht im Zusammenhang mit dem Pyridinring, die Cytochrom-Oxydase in ihrer Aktivität zu verändern.

## § 10. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die oxydative Phosphorylierung

LOOMIS und LIPMANN (1948) zeigten, daß mit Hilfe von 2,4-Dinitrophenol, in der Folge nur noch als DNP bezeichnet, die oxydative Phosphorylierung unterbunden werden kann.

Als Grundlage wurde wieder erst die Veränderung der Wasserpermeabilität durch DNP allein untersucht (Tabelle 4). Dabei zeigte es sich, daß die Wirkung von DNP sehr verschieden ist, je nach der Tageszeit, zu der die Blätter von *Rhoeo* geschnitten worden sind. Wurden die Blätter am frühen Morgen geschnitten (im Winter vor 8 Uhr), also bevor die Assimilation voll eingesetzt hatte, so bewirkte DNP eine Erhöhung der Wasserpermeabilität. Am Mittag oder Nachmittag geschnittene Blätter verhielten sich gerade umgekehrt: es trat eine Herabsetzung der Aufnahmegeschwindigkeit für Wasser ein (vergleiche Tabelle 4).

Auch diese Werte sind die Mittelwerte aus je vier Parallelversuchen. BOGEN (1953) fand nur eine Erhöhung der Wasserpermeabilität unter dem Einfluß von DNP; doch wässerte er seine Epidermisschnitte während 12 bis



Tabelle 4

Einfluß von 2,4-Dinitrophenol auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten in Abhängigkeit von der Schnittzeit der Blätter

Schnittzeit	Q-Werte nach der Einwirkung verschiedener DNP-Konzentrationen							
	$1 \cdot 10^{-2}$ m.	$5 \cdot 10^{-3}$ m.	$1 \cdot 10^{-3}$ m.	$5 \cdot 10^{-4}$ m.	$1 \cdot 10^{-4}$ m.	$5 \cdot 10^{-5}$ m.	$1 \cdot 10^{-5}$ m.	$1 \cdot 10^{-6}$ m.
8 Uhr	—	—	2,02	1,73	1,47	1,33	1,11	1,03
12 Uhr	—	—	0,55	0,68	0,92	1,02	1,05	—

14 Stunden, bevor sie untersucht wurden. Für die weiteren Versuche verwendete ich eine  $1 \cdot 10^{-4}$  molare Lösung von DNP und *Rhoeo*-Blätter, die morgens 8 Uhr geschnitten worden sind.

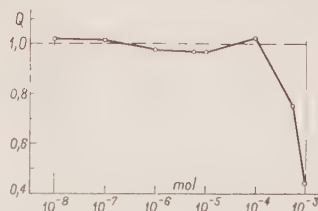
### Versuchsfrage:

Verändert eine vorausgehende Blockierung der oxydativen Phosphorylierung durch 2,4-Dinitrophenol die bekannte Wirkung von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten?

### V Versuchsergebnisse:

Abbildung 13 zeigt den Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* nach der Blockierung der oxydativen Phosphorylierung durch DNP. Die von niedrigen Toxinkonzentrationen ( $1 \cdot 10^{-9}$  bis  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter) hervorgerufene Erhöhung der Wasserpermeabilität ist vollständig verschwunden. In diesem Konzentrationsbereich ist keine Veränderung der Wasserpermeabilität gegenüber der Kontrolle mehr festzustellen. Dagegen bleibt die unter dem Einfluß höherer Konzentrationen auftretende Drosselung voll erhalten. So wurde für den nächsten Versuch die Annahme gemacht, daß der Pyridinring auf eine noch nicht bekannte Art und Weise die oxydative Phosphorylierung beeinflusst. Stimmt diese Annahme, so muß nach Blockierung der oxydativen Phosphorylierung auch die durch Pyridin ausgelöste Steigerung der Wasserpermeabilität verschwinden.

Abb. 13. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* nach Blockierung der oxydativen Phosphorylierung mit Hilfe von 2,4-Dinitrophenol ( $1 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter).  
Abszisse: Toxinkonzentration.  
Ordinate: Q-Werte



Bei gleicher Versuchsanordnung wird die Wirkung von Pyridin untersucht. In Tabelle 5 sind die Versuchsergebnisse zusammengestellt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus fünf Parallelversuchen.

Aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, daß Pyridin, wie vorher angenommen wurde, die oxydative Phosphorylierung beeinflusst. Nach einer Blockierung derselben durch DNP verschwindet die Erhöhung der Wasserpermeabilität, die sonst durch Pyridin niedriger Konzentrationen hervorgerufen wird.

Tabelle 5

Einfluß von Pyridin auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten nach der Blockierung der oxydativen Phosphorylierung durch DNP  $1 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter

Pyridinkonzentr. Mol/Liter	$1 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-7}$	$1 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-8}$
Q-Werte	1,01	1,00	1,01	1,02	1,05	0,99	1,00	1,01	1,00	1,01

### § 11. Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Atmung

Kaliumcyanid ist als Atmungsgift bekannt und wurde von BOGEN (1953) auch in seine Untersuchungen einbezogen. Er konnte aber keine durch Kaliumcyanid verursachte Änderung der Wasserpermeabilität nachweisen und schloß daraus, daß die Atmung als ganze die Aufnahme von Wasser nicht beeinflußt. Dies ist um so überraschender, weil das Atmungsenzym Cytochrom-Oxydase an der nicht-osmotischen Wasseraufnahme beteiligt ist.

Entgegen den Versuchen von BOGEN (1953) kann mit der hier verwendeten Methode eine Veränderung der Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten durch KCN festgestellt werden. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt. Die angegebenen Werte sind wiederum die Mittelwerte aus vier Parallelen.

Tabelle 6

Einfluß von Kaliumcyanid verschiedener Konzentration auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten

KCN-Konzentr. Mol/Liter	$1 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-7}$
Q-Werte	2,22	1,88	1,35	1,04	1,00	1,01	1,00	1,00

Für die weiteren Versuche verwendete ich eine  $1 \cdot 10^{-3}$  molare Lösung von Kaliumcyanid.

#### Versuchsfrage:

Ändert eine Blockierung der Atmung durch Kaliumcyanid die bekannte Wirkung von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo*-Protoplasten?

#### Versuchsergebnisse:

Wie Abbildung 14, I zeigt, wird die Fusarinsäurewirkung durch die vorausgehende Blockierung der Atmung nicht verändert. Sowohl die Steigerung als auch die Drosselung der Wasserpermeabilität stimmen mit der Kontrollkurve überein (vergleiche Abb. 1, II). Das gleiche gilt für die mit 3 n-Butyl-pyridin (Abb. 14, II) erhaltene Kurve (vergleiche Abb. 7, III).

#### Diskussion der Versuchsergebnisse von Kapitel 4

Die Ergebnisse der in diesem Kapitel beschriebenen Versuche zeigen, daß die durch Fusarinsäure verursachte Störung der Wasser-

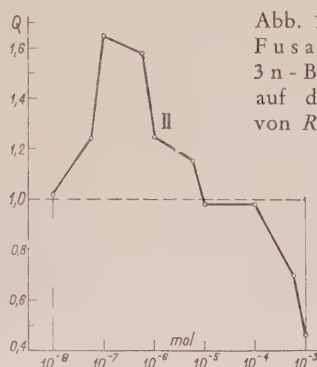
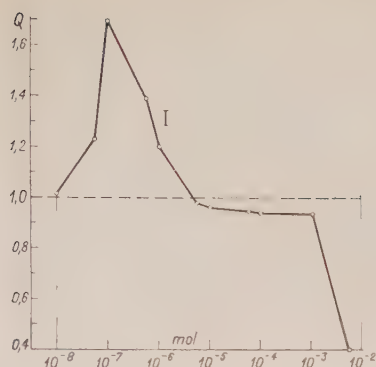


Abb. 14. Der Einfluß von Fusarinsäure (I) und 3n-Butyl-pyridin (II) auf die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* nach

Blockierung der Atmung mit Hilfe von Kaliumcyanid ( $1 \cdot 10^{-3}$  Mol/Liter).

Abszisse:  
Toxinkonzentration.

Ordinate:  
Q-Werte

permeabilität zur Hauptsache auf der Schädigung der nicht-osmotischen Stoffaufnahme beruht. Der im Toxinmolekül eingebaute Pyridinring stört die oxydative Phosphorylierung; die n-Butyl-Gruppe in  $\beta$ -Stellung verändert die Aktivität der Cytochrom-Oxydase. Ob dabei die Stoffwechselvorgänge unterbrochen oder umgeleitet werden, können erst weitere Versuche zeigen. Wie diese Reaktionen zustande kommen, ist bis heute nicht erklärbar, da auch nicht bekannt ist, wie die durch Inhibitoren ausgelöste Blockierung der Fermentsysteme abläuft (HOFFMANN-OSTENHOFF, 1954). Es wird die Aufgabe weiterer Versuche sein, mit Hilfe von Enzympräparaten abzuklären, wie Fusarinsäure die einzelnen Schritte des Stoffwechsels und damit den Wasserhaushalt der Zelle schädigt.

### Zusammenfassung

Fusarinsäure ist eines der drei von *Fusarium lycopersici* Sacc., einem Erreger der infektiösen Tomatenwelke, gebildeten Welketoxine. Sie schädigt die Tomatenpflanze unter anderem durch eine Störung der Transpiration und der Atmung.

In der vorliegenden Arbeit ist der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität pflanzlicher Protoplasten untersucht worden.

1. Fusarinsäure, 5n-Butyl-pyridin-2-carbonsäure, schädigt die Wasserpermeabilität sowohl von *Spirogyra*- als auch von *Rhoeo*-Protoplasten. Die Störung der Wasserpermeabilität ist von der Toxinkonzentration abhängig (vgl. Abb. 1). Hohe Toxinkonzentrationen bewirken bei den beiden Objekten entgegengesetzte Störungen der Wasserpermeabilität. Eine Erklärung für das verschiedene Verhalten liegt vielleicht in der Zugehörigkeit der beiden Objekte zu verschiedenen Plasmatyphen.
2. Die Veränderung der Wasserpermeabilität wird in Abhängigkeit von der Einwirkungszeit der Toxinlösung untersucht. Bei bei-



den Objekten wird die maximale Störung innerhalb 10 Minuten erreicht (vgl. Abb. 2 und 3). Konzentrationen über  $1 \cdot 10^{-4}$  Mol/Liter führen bei längerer Einwirkung zum Absterben der Zelle; der Protoplast koaguliert. Die Zahl der in die Zelle eingedrungenen Toxinmoleküle steigt mit der Einwirkungszeit.

3. Die von Fusarinsäure ausgelöste Störung der Wasserpermeabilität ist im Konzentrationsbereich über  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter bei beiden Objekten vom pH-Wert der Toxinlösung abhängig (pH-Bereich 3,5 bis 8,5). Die Störung der Wasserpermeabilität sinkt mit steigendem Dissoziationsgrad des Toxines (vgl. Abb. 4 und 5). Im Konzentrationsbereich unter  $1 \cdot 10^{-5}$  Mol/Liter spielt der pH-Wert der Toxinlösung für die Veränderung der Wasserpermeabilität keine Rolle mehr. Das dissoziierte Toxinmolekül schädigt also die Zelle anders als das undissoziierte Molekül.
4. Die durch Fusarinsäure ausgelöste Störung der Wasserpermeabilität ist irreversibel (vgl. Tabelle 2).
5. Der Einfluß von verschiedenen mit Fusarinsäure chemisch verwandten Pyridin-derivaten auf die Wasserpermeabilität der beiden Objekte, *Spirogyra* und *Rhodo*, wird untersucht. So werden Pyridin,  $\alpha$ -Picolinsäure, 3-Methyl-pyridin, 3-n-Butyl-pyridin und 5-Methyl-pyridin-2-carbonsäure geprüft. Alle Substanzen vermögen in niedrigen Konzentrationen die Wasserpermeabilität der beiden Objekte zu erhöhen (vgl. Abb. 6, 7, 8 und 9). Diese Erhöhung der Wasserpermeabilität wird durch den allen Stoffen gemeinsamen Pyridin-ring ausgelöst. Pyridin allein bewirkt dieselbe Erhöhung der Wasserpermeabilität. Die Säuregruppe in  $\alpha$ -Stellung vermag die Wasserpermeabilität nicht zu beeinflussen. Auch die Methyl-gruppe in  $\beta$ -Stellung hat keinen Einfluß auf die Wasserpermeabilität.

3-n-Butyl-pyridin ist das einzige der geprüften Pyridin-derivate, das die Wasserpermeabilität ähnlich verändert wie Fusarinsäure. Die n-Butyl-gruppe in  $\beta$ -Stellung ist demnach jene Gruppe des Fusarinsäuremoleküls, die die Wasserpermeabilität der beiden Objekte in höheren Konzentrationen schädigt und die Zellen zum Absterben bringt. 3-n-Butyl-pyridin ist ungefähr 100mal giftiger als Fusarinsäure. Diese Differenz der Toxizität kann nicht mit der Dissoziation der Fusarinsäure erklärt werden. Die Lipoidlöslichkeit von 3-n-Butyl-pyridin ist größer als jene von Fusarinsäure. 3-n-Butyl-pyridin kann deshalb schneller in die Zelle eindringen als Fusarinsäure. Der Unterschied der Giftigkeit der beiden Substanzen hat vielleicht seine Ursache in der verschieden großen Lipoidlöslichkeit derselben.

6. Die Störung der Wasserpermeabilität durch Pyridin-homologe steigt mit zunehmender Anzahl von C-Atomen in der aliphatischen Seitenkette (vgl. Abb. 10). Mit zunehmender Länge der aliphatischen Seitenkette in  $\beta$ -Stellung steigt die Lipoidlöslichkeit der Pyridin-homologen und damit ihr Eindringungsvermögen. Bei *Rhoeo* wird mit 3 n-Butyl-pyridin (4-C-Atome in der aliphatischen Seitenkette) ein Maximum an Störung erreicht. 5- und 6-C-Atome in der Seitenkette vermögen die Wasserpermeabilität von *Rhoeo* nicht weiter zu verändern. Bei *Spirogyra* hingegen wird auch mit 6-C-Atomen in der Seitenkette noch kein Maximum an Schädigung erreicht.
7. Es ist nicht wahrscheinlich, daß Fusarinsäure die Wasserpermeabilität durch Bildung von Metallchelaten stört. Fusarinsäure-äthylester löst bei *Rhoeo* eine ähnliche Störung der Wasserpermeabilität aus wie Fusarinsäure, obwohl der Äthylester von Fusarinsäure keine Chelate mehr bilden kann (vgl. Abb. 11).
8. Die bei *Rhoeo* durch Fusarinsäure ausgelöste Störung der Wasserpermeabilität läßt sich auf eine Schädigung der nicht-osmotischen Wasseraufnahme zurückführen. Die nicht-osmotische Stoffaufnahme wird durch Energie ermöglicht, die von Stoffwechselvorgängen geliefert wird. Dieser Vorgang erlaubt es der Zelle, Stoffe auch gegen ein Konzentrationsgefälle aufzunehmen. Durch Enzyminhibitoren können Stoffwechselvorgänge blockiert werden. Damit kann ihr Anteil an der nicht-osmotischen Stoffaufnahme bestimmt werden.
  - a) Blockierung der Cytochrom-Oxydase mit Hilfe von Natriumazid. Nach Blockierung der Cytochrom-Oxydase mit Natriumazid verschwindet die durch hohe Fusarinsäurekonzentrationen bewirkte Herabsetzung der Wasserpermeabilität (vgl. Abb. 12). Dasselbe gilt für 3 n-Butyl-pyridin. Fusarinsäure schädigt demnach durch ihre n-Butyl-gruppe in  $\beta$ -Stellung die Cytochrom-Oxydase.
  - b) Blockierung der oxydativen Phosphorylierung durch 2,4-Dinitrophenol. Nach einer Blockierung der oxydativen Phosphorylierung durch 2,4-Dinitrophenol verschwindet die durch Fusarinsäure niedriger Konzentration ausgelöste Erhöhung der Wasserpermeabilität (vgl. Abb. 13). Dasselbe ist bei der durch Pyridin bewirkten Erhöhung der Wasserpermeabilität der Fall (vgl. Tabelle 5). Pyridin stört demnach den Ablauf der oxydativen Phosphorylierung.
  - c) Blockierung der Atmung mit Hilfe von Kaliumcyanid. Nach Blockierung der Atmung durch Kaliumcyanid ändert sich weder die durch Fusarinsäure noch die durch 3 n-Butyl-pyridin bewirkte Störung der Wasserpermeabilität (vgl. Abb. 14).

Die durch Kaliumcyanid blockierten Enzymsysteme werden also durch Fusarinsäure nicht beeinflußt.

Wie Fusarinsäure die einzelnen Enzymsysteme beeinflußt, ist bis heute noch nicht bekannt.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. GÄUMANN, möchte ich für die Förderung dieser Arbeit herzlich danken.

### Literaturverzeichnis

- BOCHSLER, A., 1948: Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas auf Grund des Fickschen Diffusionsgesetzes. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 58, 73—122.
- BOGEN, H. J., 1940: I.-Ionenwirkung auf die Permeabilität von *Rhoeo discolor*. Ztschr. Bot. 36, 65—106.
- —, 1953: Beiträge zur Physiologie der nicht-osmotischen Wasseraufnahme. Planta 42, 140—155.
- — und PRELL, H., 1953: Messung nicht-osmotischer Wasseraufnahme an plasmolysierten Protoplasten. Planta 41, 459—479.
- BRAUNER, L. und HASMAN, M., 1952: Weitere Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Hetero-auxins bei der Wasseraufnahme von Pflanzenparenchym. Protoplasma 41, 3, 302—326.
- COLLANDER, R. und WIKSTRÖM, B., 1949: Die Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Harnstoff und Alkylharnstoff. Physiologia plant. 2, 235—246.
- DEUEL, H., 1954: Über Störungen des Spurenelementhaushaltes der Pflanzen durch Welketoxine. Phytopath. Z. 21, 337—348.
- DIMOND, A. E. and WAGGONER, P. E., 1953: On the nature and role of vivo-toxins in plant disease. Phytopathology 43, 229—235.
- FICK, A., 1855: Über Diffusion. Poggendorffs Ann. 94, 59—86.
- FREY-WYSSLING, A. und BOCHSLER, A., 1947: Zur Bestimmung der Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Experientia 3, 30.
- — und v. RECHENBERG-ERNST, V., 1943: Über die Wasserpermeabilität der Epithemzellen von Hydrathoden. Flora N.F. 37, 193—215.
- GÄUMANN, E. und v. ARX, A., 1947: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte II. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 57, 174—183.
- — und JAAG, O., 1946: Über das Problem der Welkekrankheiten bei Pflanzen. Experientia 2, 215—220.
- —, — —, 1947: Die physiologischen Grundlagen des parasitogenen Welkens I—III. Ber. Schweiz. Bot. Ges. 57, 3—34, 132—148, 227—241.
- —, — —, 1950: Über das toxische und das physikalisch induzierte Welken. Phytopath. Z. 16, 226—256.
- —, — — und BRAUN, R., 1947: Antibiotica als pflanzliche Plasmagifte I. Experientia 3, 70—71.
- —, KERN, H. und SAUTHOFF, W., 1952: Untersuchungen über Welketoxine. Phytopath. Z. 18, 404—415.
- —, NAEF-ROTH, St. und MIESCHER, G., 1950: Untersuchungen über das Lycoramasmin. Phytopath. Z. 16, 257—288.
- —, — — und KOBEL, H., 1952: Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin von *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. 20, 1—38.
- —, — —, REUSSER, P. und AMMANN, A., 1952: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. Phytopath. Z. 19, 160—220.
- —, STOLL, Ch. und KERN, H., 1953: Über Vasinifuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. 20, 445—447.



- GOLDACRE, R. I., 1952: The folding and unfolding of protein molecules as a basis of osmotic work. *Int. Rev. Cytol.* **1**, 135—164.
- GOTTLIEB, D., 1944: The presence of a toxin in tomato wilt. *Phytopathology* **33**, 126—135.
- GUTTENBERG, H. v. und BEYTHIEN, H., 1951: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. *Planta* **40**, 36—39.
- — und MEINL, G., 1952: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. II. Mitteilung: Über den Einfluß des pH-Wertes und der Temperatur auf die durch Hetero-auxin bedingten Veränderungen der Wasserpermeabilität. *Planta* **40**, 431—442.
- HAAN, IZ. DE, 1935: Ionenwirkung und Wasserpermeabilität. Ein Beitrag zur Koazervattheorie der Plasmagrenzschichten. *Protoplasma* **24**, 185—197.
- HACKETT, D. P. und THIMANN, K. V., 1950: The action of inhibitors on water uptake by potato tissue. *Plant. Physiol.* **25**, 648—652.
- —, — —, 1952: The nature of the auxin-induced water uptake by potato tissue. *Amer. J. Bot.* **39**, 553—560.
- HOFFMANN-OSTENHOFF, O., 1954: *Enzymologie*. Springer-Verlag, Wien. 772 S.
- HÖFLER, K., 1949: Über Wasser- und Harnstoffpermeabilität des Protoplasmas. *Phyton* (Wien) **1**, 105—121.
- —, 1950: New facts on water permeability. *Protoplasma* **39**, 677—683.
- —, 1952: Zur Kenntnis der Plasmahautschichten. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* **65**, 10, 391—399.
- —, 1952: Über die Farblionenpermeabilität der Tonoplastenmembran. *Ber. Dtsch. Bot. Ges.* **65**, 6, 183—187.
- HUBER, B. und HÖFLER, K., 1930: Die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. *Jb. wiss. Bot.* **73**, 351—511.
- KACZMAREK, A., 1929: Untersuchungen über Plasmolyse und Deplasmolyse in Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration. *Protoplasma* **6**, 209—301.
- KERN, H. und KLÜFFEL, D., 1956: Der Nachweis von Fusarinsäure in mit *Fusarium lycopersici* Sacc. infizierten Tomatenpflanzen. *Experientia* **12**, 181—182.
- KLEIN, G., 1932: *Handbuch der Pflanzenanalyse*. 3 Bände. Verlag J. Springer, Wien.
- KOBEL, F., 1951: Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. *Phytopath. Z.* **18**, 157—195.
- LAKSHMINARAYANAN, K. und SUBRAMANIAN, D., 1955: Is Fusaric Acid a Vivotoxin: *Nature* **176**, 697—698.
- Le FÈVRE, P. G. and Le FÈVRE, M. E., 1952: The mechanism of glucose transfer into and out of the human cell. *J. Gen. Physiol.* **35**, 891—906.
- LINDER, A., 1951: *Statistische Methoden*. 2. Auflage. Birkhäuser, Basel.
- LINSKENS, H. F., 1955: Der Einfluß der toxischen Welke auf die Blattausscheidungen der Tomatenpflanze. *Phytopath. Z.* **23**, 89—106.
- LOOMIS, W. F. und LIPMANN, F., 1948: Reversible inhibition of coupling between phosphorylation and oxydation. *J. Biol. Chem.* **173**, 807—808.
- —, — —, 1949: Inhibition of phosphorylation by azide in kidney homogenate. *J. Biol. Chem.* **179**, 503—504.
- LUNDEGÄRDH, H., 1950: The translocation of salts and water through wheat roots. *Physiologia plant.* **3**, 103—151.
- NAEF-ROTH, St. und REUSSER, P., 1955: Über die Wirkung der Fusarinsäure auf den Gasaustausch von Tomaten-Blattgewebe. *Phytopath. Z.* **22**, 281—287.
- OVERTON, R., 1895: Über die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Tierzelle. *Vierteljahrsschr. d. Naturf. Ges. Zürich* **40**, 159—201.
- —, 1899: Über die allgemeinen osmotischen Eigenschaften der Zelle, ihre vermutlichen Ursachen und ihre Bedeutung für die Physiologie. *Vierteljahrsschr. d. Naturf. Ges. Zürich* **44**, 88—135.
- PLATTNER, Pl. A., KELLER, W. und BOLLER, A., 1954: Konstitution und Synthese der Fusarinsäure. *Helv. Chim. Acta* **37**, 1379—1392.

- PRELL, H., 1953: Untersuchungen über die Aufnahme von Anelektrolyten in Zellen di- und polyploider Pflanzen. *Planta* **41**, 480—508.
- REINDERS, D. E., 1942: Intake of water by parenchymatic tissue. *Rev. Trav. bot. néerl.* **39**, 1—140.
- REUSSER, P. und NAEF-ROTH, St., 1956: Über den Einfluß der Fusarinsäure auf den Gaswechsel von *Saccharomyces cerevisiae* Hans. *Phytopath. Z.* **26**, 273—296.
- RUHLAND, W., 1912: Studie über die Aufnahme von Kolloiden durch die pflanzliche Plasmahaut. *Jb. f. wiss. Bot.* **51**, 376—398.
- —, 1950: Zur Ultrafiltertheorie. *Proc. VIIthe Int. Congr. of Botany, Stockholm.*
- SANWAL, B. D., 1956: Investigations on the metabolism of *Fusarium lycopersici* Sacc. with the aid of radioactive carbon. *Phytopath. Z.* **25**, 333—384.
- SEEMANN, F., 1949: Zur cH-Abhängigkeit der Wasserpermeabilität. *Protoplasma* **39**, 147—175.
- TAMARI, K. and KAJI, J., 1952, 1953: Studies on the mechanism of injurious action of fusarinic acid on plant growth. Parts 1—8. *J. Agr. Chem. Soc. Japan* **26**, 223—227, 295—298, 298—303, 345—349, 349—353; **27**, 245—249, 249—252, 302—306.
- THATCHER, F. S., 1942: Further studies of osmotic and permeability relation in parasitism. *Canadian J. Res.* **20 C**, 283—311.
- WARTIOVAARA, V., 1950: Zur Erklärung der Ultrafilterwirkung der Plasmahaut. *Physiologia plant.* **3**, 462—478.
- YABUTA, T., KAMBE, K. and HAYASI, T., 1934: Biochemistry of the bakanae fungus. I. Fusaric acid, a new product of the bakanae fungus. *J. Arg. Chem. Soc. Japan* **10**, 1059—1069 (cited from *Chem. Abs.* **29**, 1132, 1935).
- ZÄHNER, H., 1955: Über den Einfluß der Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit von Tomatenpflanzen. *Phytopath. Z.* **23**, 49—88.

Aus dem Phytopathologischen Institut der Martin-Luther-Universität  
Halle-Wittenberg

**Der Falsche Mehltau am Mohn**  
**(*Peronospora arborescens* [Berk.] de By.).**  
**Untersuchungen zur Biologie des Erregers**

Von

L. BEHR

Mit 23 Abbildungen

**Inhaltsübersicht:** I. Allgemeines. A. Einleitung. B. Das Krankheitsbild. C. Geographische Verbreitung des Mehltauerregers. — II. Experimenteller Teil. A. Morphologie und Physiologie der Konidien von *Peronospora arborescens*. a) Konidiengröße und -gestalt; b) Versuche zur Keimung der Konidien. B. Die Infektion. C. Der Wirtskreis von *Peronospora arborescens*. D. Die Histologie des mehltaukranken Mohns. E. Die Epidemiologie des Mehltauerregers. a) Allgemeines; b) Entstehung und Bau der Oosporen; c) Versuche zur Keimung der Oosporen; d) Verseuchungsversuche. — III. Schlußbetrachtung. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

**I. Allgemeines**

**A. Einleitung**

Der Mohn (*Papaver somniferum* L.) zählt zu den ältesten Kulturpflanzen Ostasiens, Vorderasiens und Südeuropas (BOGUSLAWSKI 1953). Anfangs wurde er weniger zur Ölgewinnung angebaut, in Asien war er in erster Linie Narkotikalieferant und trägt deshalb auch heute noch den Namen Opiummohn. Nachdem er sich später in zunehmendem Maße als Ölpflanze durchgesetzt hatte, kam er auch in allen Ländern Europas mit kontinentalem Klima (Ungarn, Österreich, Tschechoslowakei) zum Anbau, in Deutschland auch dort, wo ähnliche klimatische Verhältnisse herrschen, nämlich in Schlesien, Sachsen und Thüringen. Die Verbreitung des Mohns war zu allen Zeiten eine begrenzte; in Deutschland kommt seinem Anbau, verglichen mit demjenigen anderer Ölpflanzen, flächenmäßig eine nur geringe Bedeutung zu. Notzeiten waren jedoch stets der Anlaß, dem sich einstellenden Fettmangel auch durch einen verstärkten Mohnbau zu begegnen. Hat doch der Mohn im Vergleich zu einer der wichtigsten Ölpflanzen Mitteleuropas, dem Winterraps (*Brassica napus* L. var. *biennis* [Schübl. et Mart.] Reichb.), eine nur kurze Vegetationsperiode, so daß er den Unbilden der Witterung, tierischen Schädlingen und Krankheitserregern nicht in dem Umfange ausgesetzt ist, wie dieser. Wenn



trotz solcher Vorzüge die Ausdehnung des Mohnanbaues hinter dem erwarteten Maß zurückbleibt, so mag daran die geringe Ertragshöhe, vor allem aber eine nur geringe Ertragssicherheit schuld sein, durch die sich in den letzten Jahren der Mohn gegenüber Sonnenblumen (*Helianthus annuus* L.) und Weißem Senf (*Sinapis alba* L.) auszeichnete. Tatsächlich leidet auch der Mohn während seiner verschiedenen Wachstums- und Entwicklungsstadien unter tierischen Schädlingen und Pilzkrankheiten, die alljährlich beträchtliche Ertragsausfälle herbeiführen (NOLTE 1952). Unter den durch Pilze verursachten Krankheiten spielt *Helminthosporium papaveris* Hennig (= *Pleospora papaveracea* [de Not.] Sacc.), der Erreger der parasitären Blattdürre, die verderblichste Rolle. Daneben hat der Falsche Mehltau, *Peronospora arborescens* (Berk.) de By., in den Nachkriegsjahren an Verbreitung nicht unerheblich zugenommen. Während der Erreger der Blattdürre in jüngster Zeit mehrfach Gegenstand ausführlicher Untersuchungen gewesen ist (GRÜMMER 1951, 1952 a, 1952 b; REINMUTH 1942, 1943; MEFFERT 1950 u. a.), trifft dies für den zuletzt genannten Mohnparasiten nicht in dem Maße zu. Vor allem blieb die verderbliche Rolle, die *Peronospora arborescens* für den Mohn als ein obligater Parasit spielt, so gut wie unberücksichtigt. Nur in Südosteuropa schenkte man dem Pilz größeres Interesse. Vor allem war es YOSSIROVITCH (1929), dessen ausführliche Arbeit über *Peronospora arborescens* dazu beitrug, die Lebensweise dieses Parasiten in seinen wichtigsten Grundzügen kennenzulernen. Seit dem Erscheinen jener Arbeit sind 26 Jahre vergangen, eine Zeitspanne, in der neue, den Pilz und seine Wirtspflanze betreffende Fragen auftauchten und einer Klärung bedürfen. Nicht zuletzt ergab sich diese Notwendigkeit, da der Falsche Mehltau infolge eines verstärkten Mohnanbaues auch in Mitteldeutschland an Umfang zugenommen hat. Ein nahezu lückenloses Bild seines Lebenszyklus zu erreichen, ist das Ziel vorliegender Arbeit.

## B. Das Krankheitsbild

Für die *Peronosporaceae* ist charakteristisch, daß sie, als Endoparasiten höherer Pflanzen, im Wirtsinneren wachsen und nur ihre fruktifizierenden Hyphen durch die Stomata der befallenen Organe ins Freie senden. Der in der Gattung *Peronospora* besonders dichte, hellgefärbte Belag aus Konidienträgern ist eines der auffälligsten und charakteristischsten Kennzeichen der falschen Mehлтаupilze. Das zweite besteht in einer Chlorose der Blattoberseite, die jedoch nicht die ganze Blattspreite zu erfassen braucht, sondern stets mit dem unterseits befindlichen, allmählich sich vergrößernden „Schimmelpasen“ korrespondiert. Ein letztes Merkmal, das die Unterfamilie der *Peronosporeen* auszeichnet, hat seinen Grund in ihrer besonderen Lebensweise. Da die *Peronosporeen* obligate Parasiten sind, töten sie das Wirtsgewebe, das sie besiedeln, nicht sofort ab, sie regen es vielmehr zur Entstehung verschiedenartiger Wucherungen an.

Dies alles trifft für den Erreger des Falschen Mehлтаues am Mohn, *Peronospora arborescens*, zu und kennzeichnet die wichtigsten äußeren Symptome dieser Krankheit. Der blattunterseits befindliche „Schimmelpasen“ ist

sehr dicht, von samtartiger Beschaffenheit und weißer bis blaßvioletter Farbe (Abbildung 1).

Der Pilzbelag überschreitet niemals die Blattadern, er breitet sich in den Interkostalfeldern zu meist der Spreitenbasis aus und besteht aus baumartig verzweigten Konidienträgern. Diese erheben sich über die untere Epidermis, enden in lang und spitz auslaufenden, dichotom verzweigten Ästen (Abb. 2) und tragen an jedem dieser Gabeläste je eine Konidie.



Abb. 1. Unterseite eines Mohnblattes mit Konidienträgerassen von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. Etwa natürl. GröÙe

YOSSIFOVITCH (1929) beobachtete neben diesen „normalen“ Konidienträgern auch solche ohne jegliche Verzweigung. Sie endigten in einer einzigen, elliptischen Konidie und sollten aus Blättern, die in größerer Anzahl Oosporen enthielten, herausgewachsen sein. Der Autor stellt dabei die Frage, ob diese in ihrer Gestalt abnormen Träger etwa einer gekeimten Oospore entstammen. Da auf diesen Punkt später noch einmal eingegangen werden muß (vgl. S. 323), sei hier nur gesagt, daß am eigenen *Peronospora*-Material unverzweigte Konidienträger niemals beobachtet werden konnten.

Der flächenmäßigen Ausbreitung des „Luftmyzels“, das sich blattunterseits befindet, entspricht eine kräftige Chlorose der Blattoberseite. Wie das fruktifizierende „Luftmyzel“, so breitet sich auch die Chlorose vornehmlich am Spreitengrund aus (Abb. 3). Sie kann aber bei starkem Befall das ganze Blatt erfassen, auf andere Blätter derselben Pflanze übergreifen und dann schon von weitem die *Peronospora*-Erkrankung erkennen lassen. Bei näherer Betrachtung bemerkt man die starken Mißbildungen der infizierten Organe der Mohnpflanze: die Spreite, mit blasenartigen Erhebungen der Interkostalfelder versehen, wölbt sich nach oben, und die Blattränder rollen sich nach unten ein (vgl. Abb. 3). Blüten- oder Kapselstengel



Abb. 2. Konidienträger von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. Etwa 350  $\times$

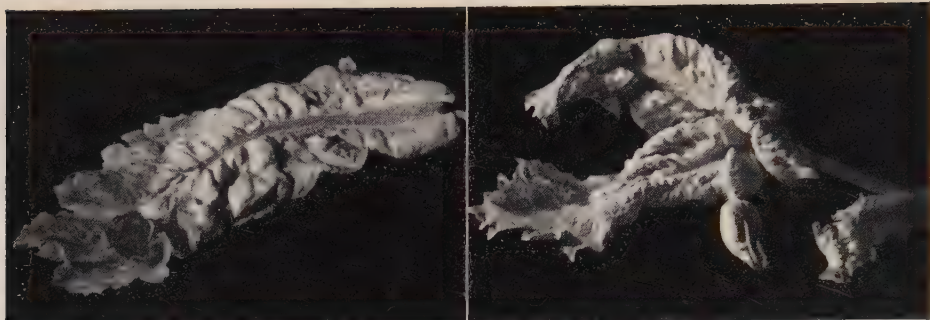


Abb. 3. Oberseite eines von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. befallenen Mohnblattes (links) und Mohnpflanze mit starkem *Peronospora*-Befall (rechts). Spreiten mit blasenartigen Erhebungen, an den Rändern nach unten eingerollt, starke Chlorose in den unteren zwei Dritteln des Blattes, Blattspitze normal grün. Etwa 0,2 bis 0,3×

stellen auf der infizierten Flanke ihr Wachstum ein, während die vom Pilz noch nicht besiedelte Flanke weiterwächst. Die Folge dieser ungleichen Ausbreitung sind die für mehltaukranke Mohnpflanzen charakteristischen, stark verkrümmten Stengel (Abb. 4), deren Blütenknospen meist absterben oder verkrüppelte Blüten und mißgestaltete Samenkapseln liefern. Zumeist sind schon die frühesten Entwicklungsstadien des Mohns von der *Peronospora* erfaßt. Ist schon das keimende Pflänzchen krank, so bleibt es gesunden Pflanzen gegenüber im Wachstum stark zurück, kommt über das Rosettenstadium gar nicht hinaus und bildet dann auch keine Blüte aus. Derartig stark befallener, verzweigter Mohn stirbt sehr rasch ab.



Abb. 4. Infolge einseitigen Mehltaubefalles stark gekrümmte Kapselstengel. Etwa 0,3×

Die geschilderten Blattdeformationen sind die Folgen einer auf das Wirtsgewebe ausgeübten Stimulationswirkung, die für alle *Peronosporeen* typisch ist und sich am Mohnblatt in besonders starkem Maße bemerkbar macht. Auch ist die Spreite des mehltaukranken Blattes spröde geworden, darüber hinaus hat es an Dicke zugenommen, so daß es Eigenschaften zeigt, die fast an die Tracht sukkulenter Pflanzen erinnern.

Wird der an Alter zunehmende Konidienträgerrasen der Blattunterseiten mißfarbig und verfärben sich die chlorotischen Flecke blattoberseits allmählich schmutzigbraun, so stellt sich im Feldbestand, wenn es in fortgeschrittener Jahreszeit an Pflanzen mit bereits ausgereiften Blättern zu Spontaninfek-



tionen gekommen ist, ein weiteres Symptom ein. YOSSIFOVITCH (1929) macht schon mit Nachdruck darauf aufmerksam; es konnte auch im Verlauf der eigenen Untersuchungen, die sich über mehrere Jahre erstreckten, immer wieder beobachtet werden. Die Krankheit beschränkte sich dann auf nekrotische, braune Flecke, die vornehmlich auf den unteren, also schon älteren Blättern entstanden. Obwohl der Pilz hier nur spärlich fruktifizierte, können die Flecke, wenn sie zahlreich sind, ein vorzeitiges Absterben der befallenen Blätter herbeiführen, die Mohnpflanze also auch in diesem Stadium der Erkrankung noch sehr schädigen. Auch *Sclerospora sorghi* (Kulk.) Weston et Uppal ruft auf *Sorghum* verschiedenartige Symptome hervor: SAFEULLA und THIRUMALACHAR (1955) schildern, daß an Sämlingen das gleiche Schadbild entsteht, wie es vom mehltaukranken Mohn geschildert wurde; von Konidien infizierte ältere Pflanzen sollen dagegen nur lokale Blattflecke ausbilden.

### C. Geographische Verbreitung des Mehltauerregers

Angesichts der auffallenden Krankheitssymptome, die *Peronospora arborescens* am Mohn auslöst, blieb ihr Schaden nicht lange unentdeckt. In vielen Ländern hat sich der Krankheitserreger in einem die Mohnernte oft gefährdenden Ausmaße ausgebreitet. THIND (1942) berichtet über das Auftreten des Mehltaus in Indien, PETRAK und ESFANDIARI (1941) fanden ihn im Iran. Auch in der UdSSR hat sich der Pilz eingebürgert (PROSHKINA-KOBEZSKAYA 1927—1928), ferner in Bulgarien (CHRISTOFF 1943), Ungarn (MOESZ 1938) und in Österreich (PROCHASKA 1928). YOSSIFOVITCH (1928) erwähnt, daß *Peronospora arborescens* in manchen Jahren die Mohnernte Jugoslawiens zur Hälfte bis zu zwei Drittel, in einigen Fällen total vernichtet. Darüber hinaus kommt aber der Parasit auch in anderen Staaten Europas vor, so in Frankreich (DARPOUX 1945), England (BEAUMONT 1953) und Holland (VAN POETEREN 1923), in der Schweiz, in Italien und Böhmen, den baltischen Staaten der UdSSR und in Dänemark (GÄUMANN 1923). Selbst in Argentinien (LINDQUIST 1939) wurde er festgestellt, wahrscheinlich kommt er auch in Persien, Ägypten und Japan vor (GÄUMANN 1923). Wenn nach VIENNOT-BOURGIN (1949) der Falsche Mehltau am Mohn in Spanien und Portugal unbekannt sein soll, so trifft dies insofern nicht zu, als *Papaver rhoeas* L. zumindest in Portugal als Wirtspflanze von *Peronospora arborescens* nachgewiesen werden konnte (DA CAMARA, DE OLIVEIRA und DA LUZ 1936).

Die Ausweitung des Mohnanbaues, die während des letzten Jahrzehntes in Mitteldeutschland betrieben wurde, schuf die Voraussetzung, daß der Falsche Mehltau an dieser Ölfrucht auch in diesem Gebiet verstärkt um sich griff. Im Sommer 1951 konnte auf einem etwa 1 ha großen Ölmohnfeld in der Nähe von Aschersleben ein Ausfall von etwa 40 %, allein vom Falschen Mehltau herrührend, beobachtet werden. Ähnliche, wenn auch nicht so hohe Einbußen, sind aus Zuchtbetrieben bekannt, die gezwungen sind, alljährlich mit nur unbedeutenden Ausweichmöglichkeiten intensiven Mohnbau zu betreiben.

## II. Experimenteller Teil

### A. Morphologie und Physiologie der Konidien von *Peronospora arborescens*

#### a) Konidiengröße und -gestalt

Die ungeschlechtliche Fortpflanzung der *Phycomyceten*, die ausschließlich der Propagation des Erregers dient, erfolgt durch Zoosporen, die in Zoosporangien gebildet werden. In der Reihe der *Oomycetes* nimmt die Familie der *Peronosporaceae* insofern eine Sonderstellung ein, als bei den Gattungen *Peronospora* und *Bremia* der plasmatische Inhalt der Zoosporangien nicht mehr in Zoosporen zerfällt, jene vielmehr mit einem Keimschlauch, also direkt auskeimen und somit zu selbständigen Konidien werden. Insofern ist es also berechtigt, die auf asexuellem Wege erzeugten Propagations-„organe“ der *Peronospora arborescens* als Konidien zu bezeichnen.

Diese werden einzeln an den Enden der ausgewachsenen, gabelig verzweigten Konidienträger (Abb. 2), die die Unterseite befallener Blätter dicht bedecken, abgeschnürt. YOSSIFOVITCH (1929) beschreibt zwei Konidientypen,

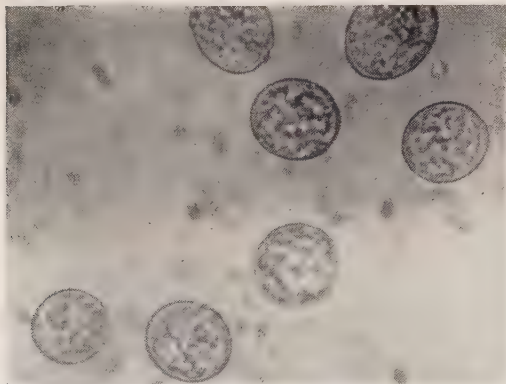


Abb. 5. Konidien von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By., Herkunft „Schlanstedt“, 630  $\times$

ovale, mit nahezu gleichem Längs- und Breitendurchmesser (18,7 bzw. 16,3  $\mu$ ), und elliptische, deren Längsdurchmesser den der Breite erheblich übersteigt (23,3 : 16,3  $\mu$ ).

In dem während dreier Vegetationsperioden zusammengetragenen eigenen Material fanden sich keine so kleinen Konidien vom ersten Typ; im Durchschnitt von elf Herkünften betrug das Längen-Breiten-Verhältnis der Konidien 22,8 : 19,0  $\mu$ . Das ist etwas größer, als es VIENNOT-BOURGIN (1949) und GÄUMANN (1923) mit 21 : 18,6 bzw. 16 : 15  $\mu$  angeben, auch

entspricht es nicht demjenigen der lang-elliptischen Konidien von YOSSIFOVITCH. Nur in einem Falle wurden Konidien mit auffallend geringem Längs- und auch Breitendurchmesser gefunden, nämlich an der Herkunft „Schlanstedt“ (Abb. 5). Sie waren nahezu rund, die Länge betrug (im Mittel von etwa 500 Messungen) 19,8, die Breite 18,0  $\mu$ . Dieser Befund wurde an der gleichen Herkunft nicht nur einmal gemacht, er ließ sich vielmehr in jedem Jahr (1951 bis 1953, 1955) bestätigen. Andererseits ergab ein bei Bad Sulza (Thüringen) gesammeltes Material mit 24,2 und 19,4  $\mu$  abnorm große Längen- bzw. Breitenwerte der Konidien.

Stellt man die insgesamt elf gesammelten *Peronospora*-Herkünfte ihrer Konidiengröße entsprechend zusammen, so ergeben sich vier Größenklassen (Herkunft „Weißenfels“ hat zu große Konidien und fällt damit etwas aus

Tabelle 1

Mittelwerte der Längen- und Breitenmaße der Konidien von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. aus elf Herkünften (gemessen in  $\mu$ )

Herkunft	Länge		Breite		Gruppe
		im Mittel		im Mittel	
Schlanstedt	19,8	19,8	18,0	18,0	I sehr klein
Klobikau	21,9		18,3		II klein
Querfurt	22,3	22,2	18,7	18,6	
Mücheln	22,5		18,8		
Weißenfels	23,4	23,4	19,0	19,0	III mittel
Aschersleben	23,1		18,7		
Hausneindorf	23,1		19,8		
Alsleben	23,4	23,4	19,7	19,4	
Könnern	23,6		19,5		
Helbra	23,8		19,2		
Bad Sulza	24,2	24,2	19,4	19,4	IV groß
Mittel aller Herkünfte	22,8		19,0		

dem Rahmen), deren jede einer Gruppe geographisch zusammengehöriger Fundorte entspricht (Tabelle 1).

Aus Schlanstedt und Bad Sulza, zwei örtlich weit voneinander getrennten Fundorten, stammen die kleinsten bzw. größten Konidien des Mehltauerregers, solche mit kleinem Längen- und Breitendurchmesser wurden in unmittelbarer Nähe von Halle, nämlich im südwestlich der Stadt gelegenen Geißeltal, solche mit mittleren Werten, die etwa den Durchschnittswerten aller Konidien entsprechen, der näheren und weiteren Umgebung von Aschersleben gesammelt.

YOSSIFOVITCH (1929) ist mit Recht der Ansicht, die Dimensionen der Konidien seien zu variabel, um sie als systematisches Merkmal auswerten zu können. Andererseits zeigten die eigenen Versuche, daß die Maße für die Konidienlänge und -breite ein ziemlich konstantes Merkmal sind, sofern die Konidien in einem geographisch eng umschriebenen Gebiet, etwa einem Stadt- oder Landkreise, gesammelt wurden. Erst das aus ganz anderen Gebieten stammende Material unterschied sich in seiner Größe von jenen.

Unter Berücksichtigung dieser Befunde kann in Mitteldeutschland also höchstens mit dem Vorkommen von Lokalrassen der *Peronospora arborescens* gerechnet werden. Eine physiologische Spezialisierung nachzuweisen, gelang an Hand eigener Versuche sowie solcher anderer Autoren (z. B. COTTON 1929) nicht. GÄUMANN (1923) hingegen hält es für wahrscheinlich, daß *Peronospora arborescens* auf *Papaver somniferum* L. eine biologisch spezialisierte Form ist, da sie auf dieser Wirtspflanze gegenüber derjenigen, die auf *P. rhoeas* L. vorkommt, eine „große Seltenheit“ darstellt. Ob innerhalb der Art *Peronospora arborescens* eine Aufspaltung in Biotypen, wie sie von den Uredineen



und vielen *Erysiphaceen* her bekannt sind, möglich ist, muß zur Zeit auf Grund der eigenen Untersuchungen noch bezweifelt werden. Die Mitteilung von ŠKORIČ (1930), daß ein Mohnfeld völlig befallsfrei blieb, obgleich es sich in unmittelbarer Nachbarschaft stark mehltauverseuchter *Papaver rhoeas*-Pflanzen befand, genügt nicht, um eine Biotypenbildung zu vermuten. Die Ursachen dieser Erscheinung können anderer Art sein, auf sie wird später noch verwiesen werden (vgl. S. 305).

### b) Versuche zur Keimung der Konidien

Es ist eine bekannte Tatsache, daß längst nicht alle der Propagation eines Pilzes dienenden Sporen den Zweck ihres Daseins erreichen; infolge des enormen Streuungsverlustes geht der bei weitem größte Teil zugrunde. Einer der Faktoren, der über die Weiterentwicklung einer Spore zum neuen Individuum entscheidet, ist die Temperatur. Für die Konidien von *Peronospora arborescens* ermittelte YOSSIFOVITCH (1929) ein Keimungsoptimum, das zwischen 17 und 18 ° C liegen soll, das Maximum soll bei 25 bis 26 ° C, das Minimum zwischen 4 und 7 ° C erreicht sein.

Tabelle 2

Keimung der Konidien von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By.  
in Abhängigkeit von der Temperatur  
(in % der Konidiengesamtzahl)

	Keimung nach			
	12 Std.	48 Std.	56 Std.	72 Std.
23 ° C	12,1	27,3	27,3	27,3
19 ° C	27,1	31,6	31,6	31,6
15 ° C	8,5	10,7	nicht gezählt	17,6
+ 2 ° C	keine Keimung	beginnende Keimung	17,3	21,8

Anmerkung: Konidien von den Blattunterseiten künstlich im Gewächshaus infizierter Mohnpflanzen vorsichtig abgekratzt und in das Keimmedium übertragen. Jeder Wert entspricht dem Mittel von zehn ausgezählten Gesichtsfeldern.

Für die eigenen Untersuchungen über die Temperaturansprüche keimen-der *Peronospora*-Konidien standen ein Brutschrank mit 23 ° C, ein Laborzimmer mit 19 ° C, ein Kellerraum mit 15 ° C (beide nahezu konstant) und ein Kühlschrank mit + 2 ° C zur Verfügung. Für die Konidienkeimung, die im Dunkeln in Esmarschalen in aqua bidest. (pH 6,5) erfolgte, erwies sich die Zimmertemperatur (19 ° C) als optimal, bei 23 ° C war sie weniger häufig, bei 15 ° C noch seltener und verzögert. Aber auch im Kühlschrank keimten die *Peronospora*-Konidien, jedoch setzte hier die Keimung nicht, wie bei höheren Temperaturen, schon nach zwei Stunden, sondern erst nach etwa zwei Tagen ein und erreichte am dritten Tage das Maximum. Eine Verlängerung der Versuchsdauer über 72 Stunden hinaus führte in keinem Falle zu einer Erhöhung des Keimprozentes (Tabelle 2).

Der relativ hohe Prozentsatz bei + 2 ° C gekeimter Konidien fällt auf. Aber auch auf Wasseragar (pH 6,5) ausgesäte *Peronospora*-Konidien ent-

wickelten sich im Kühlschrank zahlreich und mit langen Keimschläuchen. YARWOOD (1943), der mit *Peronospora destructor* (Berk.) Casp. (= *P. schleideni* Ung.) arbeitete, erzielte auf Agarplatten Keimhyphen von 30  $\mu$  Länge je Stunde. Von *Peronospora arborescens* betrug deren Länge, wenn sie in den eigenen Versuchen bei + 2 ° C gewachsen waren, im Mittel von 25 Messungen nach fünf Tagen 157  $\mu$ . Im Brutschrank (23 ° C) waren dagegen bei nur dünnen und kurzen Keimschläuchen (Länge im Mittel 98,5  $\mu$ ) die Keimprozentage gering.

Wie von einem obligaten Parasiten nicht anders zu erwarten, gelang es in keiner Weise, die Keimfähigkeit der *Peronospora*-Konidien über längere Zeit zu erhalten (siehe auch SAFEEULLA und THIRUMALACHAR 1955). Um festzustellen, wie lange die Mehltaukonidien, ohne ihr Keimvermögen einzubüßen, „konserviert“ werden können, wurden Luftmyzelflöckchen von der Unterseite spontan befallener Mohnblätter (Herkunft „Halle“) mittels einer feinspitzigen Pinzette abgenommen und trocken in sterile Uhrschildchen übertragen. In Anlehnung an die Untersuchungen von METZGER (1942), die sich mit dem Auffinden von Methoden zur „Konservierung“ lebender *Erysiphe*-Sporen befaßten, gelangten die Uhrschildchen auf sogenannte Rostbänkchen, quadratische, auf vier Glasfüßen stehende und aus dem gleichen Material gefertigte Rahmen, die am hiesigen Institut zur längeren Aufbewahrung von *Uredo*-Sporen ständig im Gebrauch sind (vgl. Abb. BECKER 1928, S. 361). Hier waren die *Peronospora*-Konidien während mehrerer Tage einer konstanten Temperatur von + 2 ° C ausgesetzt, und zwar

1. über einer gesättigten wäßrigen  $\text{CaCl}_2$ -Lösung bei einer relativen Luftfeuchte von 49 %;
2. über einer gesättigten wäßrigen NaCl-Lösung bei einer relativen Luftfeuchte von 80 %;
3. über einer 7,5%igen wäßrigen NaCl-Lösung bei einer relativen Luftfeuchte von 95 %.

Während frisch „geerntete“ Konidien bei Zimmertemperatur nach zwölf Stunden eine etwa 20%ige Keimung zeigten (Kontrolle), konnte in keiner der drei Versuchsserien, nachdem die Uhrschildchen in Zimmertemperatur zurückversetzt worden waren, eine Keimung beobachtet werden. Daran kann die Art und Weise der Konidienlagerung schuld sein, von der BECKER (1928) fordert, daß sie auf Mull- oder Drahtgaze zu erfolgen habe, ferner sollen nach METZGER (1942) die zur Aufbewahrung der Konidien dienenden Gefäße nicht zu klein sein. Die verwendeten Uhrschildchen waren demnach für Keimungsversuche nicht geeignet.

Trotzdem war es möglich, die Konidien von *Peronospora arborescens* noch zum Keimen zu veranlassen, nachdem sie längere Zeit im Kühlschrank gelegen hatten. Der im folgenden zu schildernde Versuch ergab sich durch Zufall, als mehltaukranke, aber schon überständige Mohnblätter nach längerem Liegen im Kühlschrank wieder aufgefunden wurden, der blattunterseits befindliche Konidienbelag in die Keimprüfungen einbezogen und festgestellt wurde, daß die Keimkraft nur sehr langsam nachläßt, wenn die Konidien nicht vom Blatt entfernt wurden.

Tabelle 3

Keimung der Konidien von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By.  
Keimung

	0 = Kontrolle		1		2		3		4		5		6	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
I	+++	+++	+++	+++	+	++	+	+	+	++	+	+	+	+
	+++	+++	+++	+++							+/—			
II			+	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+
							(?)						+/—	

Anmerkung: a = Auszählung 24 Std. nach Ansetzen des Keimversuches.

b = Auszählung 48 Std. nach Ansetzen des Keimversuches.

+++ = sehr starke Keimung,

++ = starke Keimung,

+ = schwache Keimung,

— = keine Keimung.

Der Versuch erstreckte sich über 13 Tage. Während dieser Zeit wurden stark mit Mehltau befallene Blätter (Herkunft „Schlanstedt“), mit der Unterseite nach oben und in offenen Glasschalen liegend, im Kühlschrank bei  $+2^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt. Im Abstand von je einem Tage wurden, wie auf S. 297 geschildert, Konidien „geerntet“, in Esmarschalen in aqua bidest. (pH 6,5) suspendiert und bei Zimmertemperatur ( $19^{\circ}\text{C}$ ) zum Keimen aufgestellt (Versuchsreihe I). Parallel dazu wurde von den Mohnblättern am Tage des Versuchsbeginnes eine große Menge Konidien vorsichtig abgekratzt; auch diese standen 13 Tage lang im Kühlschrank in Esmarschalen und wurden nach täglich erfolgter Aufschwemmung in aqua bidest. auf ihr Keimvermögen überprüft (Versuchsreihe II). Die Auszählung erfolgte je Keimschale zweimal, nämlich 24 bzw. 48 Stunden nach Übertragung der Konidien in Wasser.

Während die Kontrollen, d. h. das eben dem Mohnblatt entnommene Material, zu einer maximalen Keimung (+++) führten, ließ diese bei den Konidien, die bis zu Beginn des Keimversuches an den Mohnblättern verblieben waren, mit zunehmender Aufbewahrungsdauer im Kühlschrank allmählich nach. YARWOOD (1943) stellte fest, daß Sporangien von *Peronospora schleideni* Ung., wenn sie sich von lebenden Blättern gelöst hatten, noch drei Tage am Leben blieben. Die eigenen Versuche lassen vermuten, daß die Konidien von *Peronospora arborescens* in dieser Hinsicht resistenter sind. Bei den an den Blättern verbliebenen Konidien konnte erst vom zwölften Tage ab keine Keimung mehr beobachtet werden. Erheblich rascher, für propagative Zellen jedoch immer noch erstaunlich spät, setzte die Weiterentwicklung derjenigen Konidien aus, die vom Tage des Versuchsbeginnes ab nicht mehr mit dem Blatt der Wirtspflanze in Verbindung gestanden hatten: nach neun Tagen war sie zum Stillstand gekommen (Tabelle 3).



Tabelle 3

nach vorheriger Aufbewahrung im Kühlschrank bei  $+ 2^{\circ} \text{C}$   
nach Tagen

7		8		9		10		11		12		13	
a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
++	+++ /+++	+++	+++	+ /-	+ /-	+	+	-	+ /-	-			
+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Die Konidien der Gattung *Peronospora* keimen, wie auch diejenigen von *Bremia*, direkt, jedoch nicht wie diese aus einer Scheitelpapille; die Keimhyphne tritt vielmehr an beliebiger Stelle der *Peronospora*-Konidie ins Freie (Abb. 6 a). Abbildung 6 b zeigt Konidien von *Peronospora arborescens* nach achtstündigem Liegen in aqua dest. Eine derselben hat, was selten vorkam, zwei Keimhyphen gebildet, auffallend sind weiterhin die Dicke und die korkenzieherartigen Windungen der im Wasser wachsenden Keimschläuche. Ein anderes Bild ergab sich, wenn die *Peronospora*-Konidien im Kühlschrank bei  $+ 2^{\circ} \text{C}$  keimten. Waren die Hyphen auch hier mitunter sehr voluminös, so neigten sie doch mehr zur Entstehung schlanker, von zahlreichen ampullenartigen Anschwellungen unterbrochener Schläuche. Die Tendenz, schraubig-gewunden zu wachsen, war auch hier zu beobachten, jedoch waren die Windungen infolge einer rascheren Längenzunahme der Hyphen (vgl. S. 297) weiter auseinandergezogen als in Wasser von  $19^{\circ} \text{C}$  (vgl. Abb. 6 b).

Das relativ niedrige Keimprozent der Konidien von *Peronospora arborescens*, der

Abb. 6 a.  
In Wasser  
gekeimte  
Konidie von  
*Peronospora*  
*arborescens*  
(Berk.) de By.  
700  $\times$

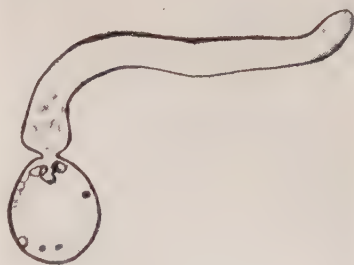


Abb. 6' b. In Wasser gekeimte Konidien von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By., oben bei  $19^{\circ} \text{C}$ , unten bei  $+ 2^{\circ} \text{C}$ . Etwa 320  $\times$

(Tabelle 2, S. 296) bei optimaler Temperatur 31,6 betrug und nur äußerst selten einmal überschritten wurde, war befremdend und ließ immer wieder den Verdacht eines unterlaufenen Versuchsfehlers aufkommen. NOBLE (1923) erzielte ein Ansteigen der Keimungsintensität, wenn er den in aqua dest. vorgequollenen Brandsporen von *Tubercinia* (= *Urocystis*) *tritici* (Koern.) Liro ein kleines Gewebestück junger Weizenpflanzen hinzufügte. Ebenso sollten in den eigenen Versuchen Blatt- oder Stengelgewebe vom Mohn, welches sich zusammen mit den *Peronospora*-Konidien in den Keimschälchen befand, deren Keimung über das normale Maß hinaus fördern. Dies trat jedoch nicht ein. Die Ursache dieser Erscheinung blieb unbekannt.

Tabelle 4

Tote oder geschädigte Konidien von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By., von einem jungen Myzelrasen eines Mohnblattes (a) sowie von einem alten Myzelrasen eines Blütenstengels (b). Ermittelt nach dem Simultanverfahren (BEHR 1955). (In Prozent der Konidiengesamtzahl)

	Versuchsnummer			Mittel der 3 Versuchsreihen
	1	2	3	
a	50,0	41,9	65,1	52,3
b	81,8	99,9	96,1	92,6

Anm.: Herkunft der Konidien: „Schlanstedt“. Jeder Wert entspricht dem Mittel von 30 ausgezählten Gesichtsfeldern.

Der Gedanke, daß die Konidien des Falschen Mehltaus von vornherein innerhalb einer nur sehr kurzen Zeitspanne keimfähig sind, lag also nahe. Wie die bisherigen Versuche zeigten, ist ihre Lebensdauer in hohem Maße von den Außenbedingungen abhängig. Es erscheint daher wenig glaubhaft, wenn vom Falschen Mehltau am Tabak, *Peronospora tabacina* Adam, behauptet wird, daß dessen Verbreitung durch den Wind erfolge, der die Konidien über Strecken von wenigstens 32 km befördere (HYRE 1952). Selbst an der Wirtspflanze von *Peronospora arborescens*, dem Mohn, scheint die Fähigkeit zur Keimung schon bald nach der Entstehung der Konidien verlorengegangen zu sein. So konnte mit Hilfe eines besonderen Färbeverfahrens, wobei die beiden Reagenzien Haematoxylin und Chlorzinkjod Verwendung fanden (BEHR 1955), nachgewiesen werden, daß über die Hälfte der auf einem jungen, ganz frisch befallenen Mohnblatt gebildeten *Peronospora*-Konidien auf Grund ihrer braun-violetten Färbung bereits abgestorben, überaltert oder stark geschädigt war (Tabelle 4). Dieser Befund ist erstaunlich, erwartet man doch von den Konidien eines noch jungen, rein-weißen Pilzrasens, der sich gerade blattunterseits gebildet und Konidien abgeschnürt hat, einen weit höheren Vitalitätsgrad. Noch größer war die Zahl geschädigter und damit auch nicht mehr keimfähiger Konidien an dem bereits schmutzig verfärbten „Luftmyzel“, wie es oft an Blüten- und Kapselstengeln, aber ebenso an stark befallenen und an der Krankheit zugrunde gehenden Blättern zu finden ist und in dem Färbeversuch als Kontrolle (b) verwendet wurde. Hier färbten

sich die Konidien zum allergrößten Teil braun-violett und waren somit, im Gegensatz zu den wenigen, die keinen Farbstoff aufgenommen hatten, auch nicht mehr keim- und lebensfähig. In Tabelle 4 sind die durch Haematoxylin und Chlorzinkjod gefärbten, d. h. geschädigten und nicht mehr keimfähigen Konidien eines frisch befallenen Mohnblattes solchen gegenübergestellt, die von einem bereits überalterten Myzelrasen eines Blütenstengels stammten.

### B. Die Infektion

Die Ermittlung der Optimaltemperatur zur Keimung der *Peronospora*-Konidien geschah, um für die Untersuchungen über den Infektionsvorgang einen ungefähren Anhaltspunkt für die Temperatur zu erhalten. Hatte YOSSIFOVITCH (1929) im Labor, ungefähr mit den eigenen Ermittlungen übereinstimmend, das Keimungsoptimum bei 17 bis 18 ° C festgestellt, so lag nach ihm die für die Feldinfektion günstigste Temperatur erheblich tiefer, nämlich zwischen 12 und 14 ° C.

Dem bei 19 ° C liegenden Keimungsoptimum entsprechend, wurden die ersten eigenen Infektionsversuche durchgeführt. Für eine nahezu feuchtigkeitsgesättigte Luft konnte in den Infektionskabinen des Gewächshauses ständig gesorgt werden. Da YOSSIFOVITCH (1929) angibt, es seien alle Teile des oberirdischen Sprosses anfällig, also die Blattober- wie auch die -unterseiten des Mohns zur Infektion geeignet, wurden 42 Tage alte Mohnsämlinge mit einer frisch hergestellten Aufschwemmung junger Konidien übersprüht und in den Infektionskabinen aufgestellt. Außerdem wurden die Mohnblätter ober- und unterseits mit einer Konidiensuspension bepinselt, die Blattspreiten zwischen zwei vorher mit dem „Inokulum“ benetzten Fingern vorsichtig gerieben oder mit der Blattunterseite eines spontan befallenen Blattes abgerieben. Der Erfolg war stets der gleiche: nach einer Inkubationszeit von fünf bis sechs Tagen (YOSSIFOVITCH 1929: vier bis fünf Tage im Freiland bei 12 bis 14 ° C) erschien auf den Blattunterseiten der infizierten Pflanzen ein Konidienträgerasen, der jedoch nur äußerst schütter war und auch an Dichte nicht zunahm, solange die Mohnpflanzen am Leben blieben. Zur Gewinnung eines frischen Infektionsmaterials waren derart schwach befallene Sämlinge ebensowenig geeignet wie für spätere pathohistologische Untersuchungen. Es mußte deshalb nach einer anderen Infektionsmethode gesucht werden, die möglichst rasch zu einer starken Erkrankung der Pflanze führte. Folgender Weg wurde dabei eingeschlagen:

An 60 Tage alten, in Pikierschalen oder Töpfen stehenden Mohnsämlingen wurden die noch nicht entfaltenen jüngsten Blätter des Sproßvegetationskegels vorsichtig auseinanderpräpariert und in diesen mit Hilfe einer sehr feinen Pinzette ein kleines Flöckchen eines fruktifizierenden Luftmyzels übertragen. Ebenso erfolgreich verlief die Übertragung kleinster, mit Sporangien besetzter Blattstücke<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Nach Fertigstellung des Manuskriptes wurde mir eine Arbeit von CORNFORD (1954) bekannt, welcher Zuckerrüben (*Beta vulgaris* L.) durch Beträufeln der kleinen Zentralblätter mit einer Konidienaufschwemmung von *Peronospora schachtii* Fock. infizierte.



Nach Ablauf der normalen Inkubationsperiode waren an allen infizierten Sämlingen die ersten Krankheitssymptome zu sehen. Während sich die nicht-infizierten Kontrollpflanzen kräftig weiterentwickelten, waren die erkrankten Sämlinge im Wachstum stark gehemmt (Abb. 7), die Spreiten aller neu hinzukommenden Blättchen blieben schmal, röllten sich an den Rändern nach unten ein und wurden spröde, oberseits waren sie stark chlorotisch, und unterseits ließen sie makroskopisch einen Konidienträgerrasen erkennen, der rasch samtartig dicht wurde und schon am zwölften Tage nach der Infektion stark fruktifizierte.



Abb. 7. Rechts: mit *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. künstlich infizierter Mohnsämling. Links: nicht infiziert (Kontrolle).  
Schwach verkleinert

Diese Art der künstlichen Infektion des Mohns mit dem Mehltauerreger führte mit absoluter Sicherheit zum Erfolg. Sie wurde in Zukunft ausnahmslos angewandt. Lag die Temperatur anfangs bei etwa 19 °C, so stellte sich später heraus, daß Temperaturen, die zwischen 12 und 17 °C lagen, die Infektion noch günstiger beeinflussten. Diese Feststellung wurde zunächst an Hand mehrerer Gewächshausversuche gemacht, wobei mit Hilfe eines Thermographen am Tage der Infektion sowie dem darauffolgenden Tage folgende Werte notiert wurden (Tabelle 5):

Tabelle 5

Temperatur in der Infektionskabine des Gewächshauses  
am Infektions- und darauffolgenden Tag

Versuch 1			Versuch. 2		
Datum	Uhrzeit	Temperatur °C	Datum	Uhrzeit	Temperatur °C
5. Juni 52	7	11	9. Juni 52	7	12
	13	20		13	13
	19	22		19	14
Wetter: nachmittags Dunst, bedeckt, abends heiter			Wetter: bedeckt, Regen		
6. Juni 52	7	15	10. Juni 52		
	13	26		13	14
Wetter: dunstig, bedeckt				19	14
			Wetter: nachts bedeckt, tagsüber Dunst, stark bewölkt		

Unter diesen Bedingungen, insbesondere denjenigen des 9. und 10. Juni, gingen die künstlichen Infektionen ausnahmslos an. Eine Bestätigung erbrachten Beobachtungen, die am Mohn im Freiland gemacht wurden. Auf dem Versuchsfeld des Phytopathologischen Institutes in Stichelsdorf (bei Halle/Saale) war in den Jahren 1951 und 1952 je ein Aussaatzeitenversuch angelegt worden, der besonders 1952 zu einem relativ hohen Spontanbefall geführt hatte. Keineswegs war aber der Mohn jeder Terminparzelle befallen, er war vielmehr am heftigsten erkrankt, wenn das Wetter zur Zeit des Auflaufens kühl und regnerisch war. Folgende, den Aufzeichnungen der Mitteldeutschen Wetterdienststelle entnommenen Witterungsdaten lassen diesen Zusammenhang deutlich erkennen (Tabelle 6)<sup>1)</sup>.

Tabelle 6

Witterungsverlauf und Mehltauauftreten in Stichelsdorf (bei Halle/S.) zur Zeit des Auflaufens des Mohns (Temperatur in °C)

Sorte „Mahndorfer“, aufgelaufen zwischen 14. und 20. Mai 1952

Datum	14. bis 17. Mai	18. bis 20. Mai
Wetter z. Z. des Auflaufens der Mohnsaat	nachts + 7 bis + 9° C am Tage zwischen + 11 und + 17° C; bewölkt, Regen, Sprühregen	nachts + 4 bis + 6° C am Tage zwischen + 9 und + 16° C; zumeist heitet, wolkenlos
Mehltaubefall	sehr geringer und schwacher Befall	

Sorte „Schlanstedter“, aufgelaufen zwischen 29. und 30. Mai 1952

Datum	29. Mai			30. Mai				31. Mai	
Uhrzeit	7	13	19	1	7	13	19	1	7
Wetter z. Z. des Auflaufens der Mohnsaat	+ 10° stark be- wölkt	+ 12° Regen	+ 13° Schauer	+ 8° wolkgig	+ 9° stark be- wölkt, Dunst	+ 17° stark be- wölkt	+ 16° heiter, Regen	+ 7° wolken- los, Dunst	+ 11° heiter, Dunst
Mehltaubefall	sehr viel stark befallene Sämlinge								

Sorte „Schlanstedter“, aufgelaufen zwischen 2. und 3. Juni 1952

Datum	2. Juni			3. Juni				4. Juni		
Uhrzeit	7	13	19	1	7	13	19	1	7	13
Wetter z. Z. des Auflaufens der Mohnsaat	+ 16° stark be- wölkt	+ 24° heiter	+ 22° heiter	+ 13° Regen, bedeckt	+ 16° Regen, stark be- wölkt	+ 20° stark be- wölkt	+ 19° wolkgig, Schauer	+ 9° heiter	+ 11° Dunst, stark be- wölkt	+ 16° wolkgig
Mehltaubefall	Befall nicht so häufig wie beim vorhergehenden Termin									

1) Die Registrierung erfolgte, da das Agrarmeteorologische Institut unserer Universität zu jener Zeit in Stichelsdorf noch keine Wetterstation eingerichtet hatte, in Halle. Für das Zustandekommen der Infektion schien aber allein die Großwetterlage, wie sie in jenen Tagen über Halle und seiner Umgebung herrschte, entscheidend zu sein.

Zum heftigsten Mehltaubefall kam es im zweiten Terminversuch (29. bis 31. Mai), da hier zur Zeit der Keimung die niedrigsten, d. h. für die Infektion günstigsten Temperaturen (im Durchschnitt  $12^{\circ}\text{C}$ ) herrschten. Wenn der „Mahndorfer“ Mohn nur schwach erkrankte, so war dies, wie später noch zu zeigen sein wird, eine sortentypische Eigenschaft (vgl. S. 328). Auch im Jahre 1954 dürfte ein in Schlanstedt angelegter Versuch nur deshalb zu einem Befall von etwa 60 % geführt haben, weil eine anfällige Sorte Verwendung fand und sich während des Auflaufens der Mohnsaat für die Infektion günstige Temperaturen einstellten: der Aufgang erfolgte am 6. Juni, dabei herrschte am 6., 7. und 8. Juni eine Minimaltemperatur von durchschnittlich  $8,6^{\circ}\text{C}$ , im Maximum betrug die Temperatur, ebenfalls im Durchschnitt der drei Tage,  $21,8^{\circ}\text{C}$ .

Im Verlauf der weiteren Untersuchungen stellte es sich heraus, daß für das Gelingen der Infektion das Einhalten einer bestimmten Temperatur von nicht so großer Bedeutung war. Bei den zahlreichen, während der Sommermonate durchgeführten künstlichen Infektionen war es im Gewächshaus meist unmöglich, die Temperatur auf  $19^{\circ}\text{C}$  und darunter zu halten. Wie die Abbildung 8 zeigt, herrschten innerhalb einer Zeitspanne von 14 Tagen in den Kabinen Temperaturen, die — bis auf den 19. und 20. Juni 1953 — sämtlich über  $20^{\circ}\text{C}$ , im Maximum über  $30^{\circ}\text{C}$  betrugen. Trotzdem kamen alle künstlichen Infektionen zum Haften. Entgegen der Auffassung von YOSSEFOVITCH (1928, 1929) unterliegt es keinem Zweifel mehr, daß für das Zustandekommen des parasitischen Verhältnisses zwischen *Peronospora arborescens* und ihrem Wirt weniger der Temperaturfaktor als eine hohe Luftfeuchtigkeit von ausschlaggebender Bedeutung ist (vgl. auch ANONYM, 1950). Davon überzeugte der Versuch, die Temperatur in den Infektionskabinen durch ununterbrochenes Öffnen der Türen möglichst niedrig zu halten. Während in den geschlossenen Kabinen mit ständig hoher Luftfeuchtigkeit alle infizierten Sämlinge erkrankten, trat bei geöffneter Tür in keinem Falle Mehltau auf.

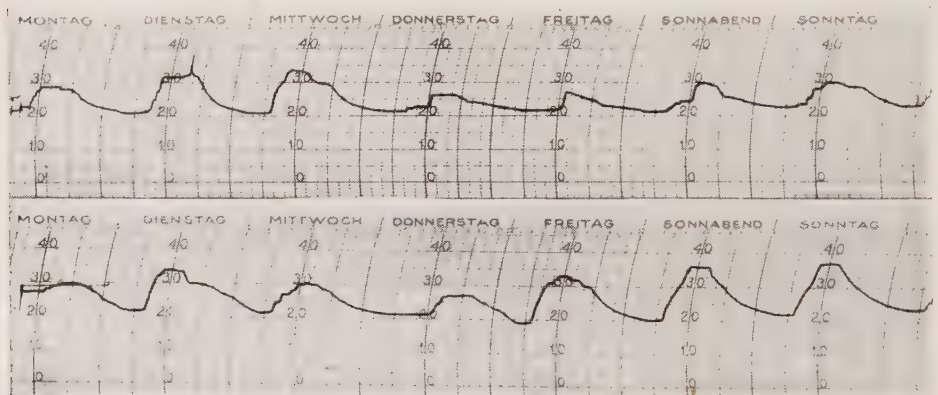


Abb. 8. Temperaturverlauf in den Infektionskabinen vom 8. bis 14. (oben) und 15. bis 21. Juni 1953 (unten)



Wie die Infektionsversuche zeigen, kann man sich auf dem Felde in einem Mohnbestand nur dann eine Ansteckung gesunder Pflanzen durch mehltaukranke vorstellen, wenn die Infektion am Vegetationskegel der wachsenden Mohnpflanze erfolgt. Diese Chance dürfte jedoch den *Peronospora*-Konidien nur selten geboten werden. Zwar ging aus Freilandbeobachtungen ebenso wie aus den Laborversuchen hervor (vgl. S. 301), daß eine Übertragung der Krankheit durch Berührung möglich, der Verlauf dann allerdings ein leichter war. Jede heftige Erkrankung ging aber immer von den jüngsten Blattanlagen des Vegetationskegels oder von diesem selbst aus. Die Annahme von COTTON (1929), die Neuinfektion des Mohns erfolge durch in der Luft befindliche oder im Boden vorhandene Konidien, muß daher abgelehnt werden, ebenso die Behauptung von PAPE (1933), die gegenseitige Ansteckung der Pflanzen sei die Folge einer ungewöhnlich engen Saat. Allein aus der Tatsache heraus, daß *Peronospora arborescens* ein obligater Parasit ist und daher auf eng stehenden, sich Licht und Nahrung streitig machenden, vergeilenden Pflanzen kaum ein optimales Fortkommen finden dürfte, kann der Ansicht von PAPE nicht ohne weiteres zugestimmt werden. Außerdem konnte mehrfach beobachtet werden, daß schwer befallene Pflanzen, obwohl sie auf der gesamten Stengeloberfläche und auf der Unterseite aller Blätter ein stark fruktifizierendes „Luftmyzel“ trugen, inmitten völlig gesunder Pflanzen standen und diese nicht ansteckten, auch wenn sie sich gegenseitig berührten. Experimentell ist es möglich, an Mohnpflanzen auch dann noch eine heftige Erkrankung herbeizuführen, wenn sie schon längst das Sämlingsalter und sogar das Rosettenstadium überstanden haben. Ein derartiger Versuch wurde am Mohn im Freiland durchgeführt, indem kleine Stücke befallenen Blattgewebes (Herkunft „Bad Düben“) in den Vegetationskegel der schon schossenden Pflanzen übertragen wurden. Da das Wetter während und unmittelbar nach der Infektion kühl und regnerisch war (die Temperatur schwankte zwischen 10 und 14 °C), erkrankte fast jede der infizierten Pflanzen mit deutlichen und charakteristischen Symptomen.

Auch die Art und Weise, wie der Erreger des Falschen Mehlttaus mit der Mohnpflanze in innigen Kontakt gelangt (Infektionsmodus), wurde untersucht. Dabei konnten die Angaben, die YOSSIFOVITCH (1929) über diesen Vorgang machte, bestätigt werden. Die Keimhyphen der *Peronospora*-Arten dringen direkt in das Wirtsinnere ein: „on voit . . . . . que la présence des stomates est indifférente pour l'entrée des tubes-germes“ (DE BARY, 1863). HENDERSON (1937) berichtet dasselbe von *Peronospora tabacina* Adam, BREMER (1953) von *P. brassicae* Gäum. und YOSSIFOVITCH (1929) von *P. arborescens* (Berk.) de By.

In den eigenen Versuchen wurden, um dieser Frage noch etwas näher auf den Grund zu gehen, die Blattunterseiten getopfter, junger Mohnpflanzen oder auch junger, isolierter Mohnblätter mit einer dichten, wässrigen Aufschwemmung frischer Konidien besprüht. 18 Stunden danach konnte an zahlreichen Epidermisabrissen dieser Blätter mikroskopisch festgestellt werden, daß die Konidien gekeimt und die Keimschläuche ins Blattinnere ein-



Abb. 9. Gekeimte *Peronospora*-Konidien auf der Unterseite eines Mohnblattes. Der Pfeil zeigt auf die Stelle, an welcher die Epidermiszelle von der Infektionshyphe perforiert wurde. Etwa 500  $\times$

gedrungen waren (Temperatur 19<sup>0</sup> C). Die Hyphe schwoll dabei unmittelbar nach dem Verlassen der Konidie an. Immer im innigen Kontakt mit der Epidermis bleibend, wuchs sie eine Strecke auf dieser entlang, schwoll noch einmal an, um sich plötzlich zu verzüngen und die Membran der Epidermiszelle zu perforieren. *Peronospora arborescens* dringt also nicht zwischen zwei Epidermiszellen in das Wirtsinhere vor, ihre Keimschläuche sind vielmehr, wie die Versuche zeigten, in der Lage, die Kutikula und die Zellwände

der Epidermis gewaltsam zu durchbrechen (Abb. 9). Ob es sich bei dem letzten Anschwellen der Keimhyphe um eine Appressoriumbildung handelte, wie sie auch HENDERSON (1937) für *Peronospora tabacina* vermutete, konnte nicht mit Sicherheit festgestellt werden.

Daß die Infektion stattgefunden hatte und der Pilz in das Innere des Blattes vorgedrungen war, konnte man dem Blatt mitunter schon makroskopisch ansehen: es wurde

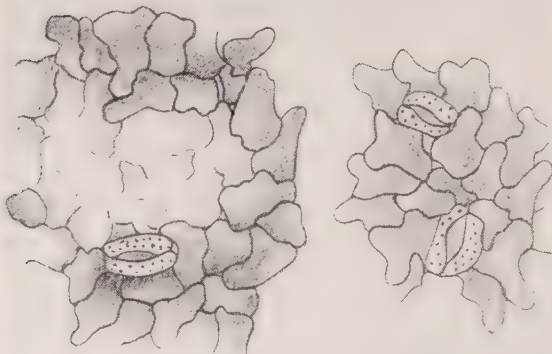


Abb. 10. Aufsicht auf die untere Epidermis eines Mohnblattes. Links: 24 Stunden nach künstlicher Infektion mit *Peronospora arborescens* (Berk.) de By., kollabierte Epidermiszellen und Chlorophyllabbau zeigend. Rechts: nicht infiziert (Kontrolle). 200  $\times$

mißfarben und erschien stellenweise ölig-transparent. Unter dem Mikroskop im durchfallenden Licht betrachtet, bestanden diese Flecke aus kollabierten, regellos über die Blattunterseite verteilten Epidermiszellen, die bereits einen deutlich fortgeschrittenen Chlorophyllschwund im Mesenchym erkennen ließen (Abb. 10). Diese Chlorose wird später noch Gegenstand weiterer Erörterungen sein (vgl. S. 312—314).

### C. Der Wirkkreis von *Peronospora arborescens*

Nachdem es gelungen war, eine absolut sicher zum Ziele führende Infektionsmethode auszuarbeiten, erhob sich die Frage, ob der Ölmohn allein oder auch andere *Papaver*-Arten sowie weitere *Papaveraceen* die Wirtspflanze von *Peronospora arborescens* sind.

Nach einer brieflichen Mitteilung, die ich Herrn Dr. H. BUHR (Mühlhausen i. Thür.) verdanke, trat der Falsche Mehltau in einem Lehrgarten in Groß-Lüsewitz (Mecklenburg) an *Papaver caucasicum* Marsch.-Bieb. auf. BONTEA (1953) nennt für *Peronospora arborescens* folgende Wirte: *Papaver rhoeas* L., *P. somniferum* L. und *P. dubium* L., denen YOSSIFOVITCH (1929) noch *P. argemone* L., *P. sparsa* auct. ? und *P. alpinum* L., *P. nudicaule* L., ferner *Meconopsis cambrica* (L.) Vig. und *Argemone platyceras* Link et Otto, GÄUMANN (1923) *A. mexicana* L. hinzufügen. Auch *Meconopsis betonicifolia* Franch., *M. wallichii* Hook., *M. integrifolia* (Maxim.). Franch., *M. regia* Taylor und andere *Meconopsis*-Arten wurden von *Peronospora arborescens* befallen (ALCOCK 1933, COTTON 1929).

Es war mir möglich, die z. T. der Literatur entnommenen Angaben an Hand eines kleinen Sortimentes mehrerer *Papaveraceen* zu überprüfen<sup>1)</sup>. Folgende Pflanzen standen zur Verfügung: *Papaver somniferum* L. (als anfällige Kontrolle), *P. orientale* L., *P. setigerum* DC., *Argemone platyceras* Link et Otto, *Hypecoum procumbens* L., *Chelidonium majus* L., *Corydalis sempervirens* (L.) Pers., *Eschscholtzia californica* Cham., *Dicranostigma franchetianum* (Prain) Fedde und *Glaucium flavum* Crantz. In einem Alter von meist 40 Tagen wurden sie, nachdem sich die ersten beiden Laubblätter entwickelt hatten, nach der auf S. 301 beschriebenen Methode infiziert. Nach Ablauf der normalen Inkubationszeit von fünf Tagen ließen von allen infizierten Pflanzen nur die beiden *Papaver*-Arten *somniferum* und *setigerum* deutliche Befallssymptome erkennen, alle anderen Pflanzen blieben gesund und entwickelten sich kräftig weiter. Während die Infektion am Ölmohn immer nur mit einigen Ausfällen anging, erkrankten die Sämlinge von *Papaver setigerum* ohne Ausnahme. Es scheint also hier eine für *Peronospora* besonders anfällige Art vorzuliegen.

Das Ergebnis widerspricht in vielem den Resultaten, die die oben genannten Autoren erzielt hatten. Daß *Peronospora arborescens* auf *Papaver orientale*, einer dem Ölmohn so nahe verwandten Art, nicht anging, war zunächst Anlaß, das Resultat der Infektionsversuche etwas skeptisch zu be-

<sup>1)</sup> Den Herren Prof. Dr. MEUSEL (Halle) und Prof. Dr. MANSFELD (Gatersleben) sei an dieser Stelle für die Überlassung der Samen verbindlichst gedankt.



trachten. Die Bedenken mußten aber schwinden, nachdem der Orientalische Mohn aus drei weiteren Wiederholungsversuchen erneut gesund hervorgegangen war und *Papaver setigerum* immer wieder total erkrankte. Diese Ergebnisse fanden eine Bestätigung in den Untersuchungen von BONTEA (1953), wonach sich der auf *Glaucium*-, *Corydalis*-, *Fumaria*- und *Papaver*-Arten vorkommende „Falsche Mehltau“ aus insgesamt sechs *Peronospora*-Arten zusammensetzte. GÄUMANN (1923) hat vielleicht recht, wenn er *Peronospora arborescens* als eine dem Ölmohn streng angepaßte „biologische Form“ auffaßt (vgl. S. 295). Es wäre dann zu verstehen, weshalb der Parasit *Papaver somniferum* angreift, die übrigen Arten sowie Gattungen der Mohngewächse wie *Chelidonium*, *Corydalis*, *Eschscholtzia* usw. nicht infiziert. Warum aber gleichzeitig mit dem Ölmohn auch *P. setigerum* erkrankte, bleibt dann eine noch offene Frage.

Abschließend sei noch bemerkt, daß innerhalb des Ölmohnsortimentes die Sorten mit einer unterschiedlichen Befallsstärke reagieren. So erkrankte nach PROCHASKA (1928) die „Esterhazy“-Varietät von *Papaver somniferum* am heftigsten, der „Burgenland“-Mohn am wenigsten, andere Sorten nahmen eine Mittelstellung ein. Bekanntlich ging auch aus den eigenen Versuchen hervor, daß der „Schlanstedter“ regelmäßig stärkeren Befall aufwies als der „Mahndorfer“ oder „Klein-Wanzlebener“ (vgl. S. 304 und 328).

#### D. Die Histologie des mehltaukranken Mohns

Bei Betrachtung der Unterseite mehltaukranker Blätter gewinnt man immer wieder den Eindruck, als seien nicht diese, sondern die Stengel die Organe, an denen die Infektion mit dem Parasiten erfolgt. Stets scheint es so, als beschränke sich der Befall im wesentlichen auf die Spreitenbasis (vgl. S. 291) und breite sich nur allmählich in Richtung auf die Blattspitze aus. Vom Stengel aus dringen also die Pilzhypen in die Blattmittellrippe vor, um von dort aus, unter Umgehung der Blattrippen höherer Ordnung, die Spreite zu besiedeln und von dieser, von der Spreitenbasis zur -spitze fortschreitend, Besitz zu ergreifen. Schon der günstige Verlauf aller künstlichen Infektionen legte den Verdacht nahe, daß nur der Stengel das für den Pilz primäre, das Blatt das sekundäre Wirtsgewebe darstellen kann; geht doch einer heftigen Erkrankung des Mohns stets eine Infektion des Vegetationskegels voraus (vgl. S. 305). Tatsächlich ließ sich histologisch immer wieder zeigen, daß die *Peronospora*-Hyphen primär und auf sehr große Strecken die Achsenorgane des Mohns durchziehen und erst von diesen in die Blätter abzweigen. Sehr deutlich wurde das an mehreren *Papaver*-Sämlingen, die nach künstlicher Infektion des Vegetationskegels noch lange im Gewächshaus verblieben und sich dank besonders sorgfältiger Pflege verhältnismäßig gut weiterentwickeln konnten. Mit bloßem Auge ließ sich leicht verfolgen, wie alle aus dem infizierten Vegetationskegel hervorgehenden Stengelteile ebenfalls erkrankten und der Pilz in jedes neue Blättchen, noch vor dessen endgültiger Entfaltung, hineinwuchs. In diesem so frühen Stadium entwickelte sich blattunterseits ein mit der Zeit immer dichter werdender, die ganze

Spreite überziehender Konidienträgerassen, der an älteren, tiefer inserierten Blättern nur auf die Spreitenbasis beschränkt blieb. Es waren dort die größten Blattadern, die den Pilz an einer weiteren Ausbreitung hinderten.

Nachdem die Infektionshyphye des Pilzes die Außenwand der Wirtszelle quer durchwachsend durchdrungen hat, schwillt sie wieder zur ursprünglichen Dicke an. Vor dem Passieren der Innenwand der Epidermiszelle verjüngt sie sich abermals, um von nun an im Wirtsgewebe ausschließlich interzellulär gefunden zu werden (YOSSIFOVITCH, 1929). Wahrscheinlich stimmen alle *Peronosporaeen* in diesem Eindringungsmechanismus überein, so schildert ihn HENDERSON (1937) für *Peronospora tabacina* Adam in gleicher Weise.

Die weitere Ausbreitung des Pilzes wurde an Quer- und Längsschnitten durch Mohnstengel und -wurzeln spontan befallener Feldpflanzen sowie künstlich infizierter Sämlinge verfolgt. Da die interzellulär verlaufenden Hyphen von *Peronospora* sehr dick und von knorrigem Wuchs sind, bereitete ihr Auffinden keine besonderen Schwierigkeiten. Ihre mittlere Dicke beträgt  $17,7 \mu$  (nach VIENNOT-BOURGIN, 1949, 11 bis  $14 \mu$ ) gelegentlich, wenn auch sehr selten, wurden Hyphendurchmesser bis zu  $35 \mu$  ermittelt. Infolge dieser außergewöhnlichen Dicke hätte sich im Rahmen der histologischen Studien eine besondere Myzelfärbung erübrigen müssen, sie wurde jedoch durchgeführt, um auch an dickeren Schnitten das longitudinale Wachstum etwas verdeckt liegender Hyphen verfolgen zu können. Die Färbung erfolgte in Anlehnung an die von HOLZ (1936) entwickelte Methode und geschah (abgeändert) in folgender Weise:

1 cm<sup>3</sup> einer 1%igen wäßrigen Lösung von Anilinblau wurde mit 10 cm<sup>3</sup> Eisessig versetzt. Nach einer Färbedauer von etwa zwei Stunden gelangten die *in toto* blau gefärbten Schnitte zwecks gründlicher Spülung in aqua dest., von dort aus in eine 15%ige KOH, in welcher sie 1 bis 2 sec lang verblieben und die Farbe nach Rosa umschlug. Erneut in das Spülwasser übertragen, trat wieder Blaufärbung ein. Es färbte sich jedoch nur das Pilzmyzel, sofern der Aufenthalt im Wasser von nur kurzer Dauer war. War es in letzterem zu einer Überfärbung, d. h. auch einer Tinktion des Wirtsgewebes gekommen, so mußten die Schnitte wieder in KOH zurück- und dann erneut in das Spülwasser übergeführt werden. Dieser Wechsel konnte beliebig lange und mußte so oft erfolgen, bis der gewünschte Farbton des Pilzmyzels erreicht war.

Aus verschiedenen Höhen des Stengels von etwa 30 cm hohen, sehr stark mehltaukranken Mohnpflanzen („Schlanstedter“), deren Blütenknospen noch von den jüngsten Blättern des Sproßvegetationskegels umschlossen waren, wurden Quer- und Längsschnitte hergestellt. Nach erfolgter Färbung gelang es, das Myzel des Parasiten in Gestalt langer, die Interzellularräume des Wirtsgewebes durchziehender Stränge zumeist auf der ganze Länge des Stengels bis hinauf in die Kelchblätter und, wie später noch zu zeigen sein wird (vgl. S. 325), noch weiter nachzuweisen. Abb. 11 zeigt zwei in einem Interzellularraum verlaufende, quergeschnittene Hyphen, die außerdem zwei Haustorien in eine der Wirtszellen entsendet haben. Nicht immer breitet sich aber das Myzel des Pilzes gleichmäßig über den ganzen Stengelquerschnitt aus. Besiedelt es nur eine Flanke desselben, so kommt es auf dieser zu Wachs-

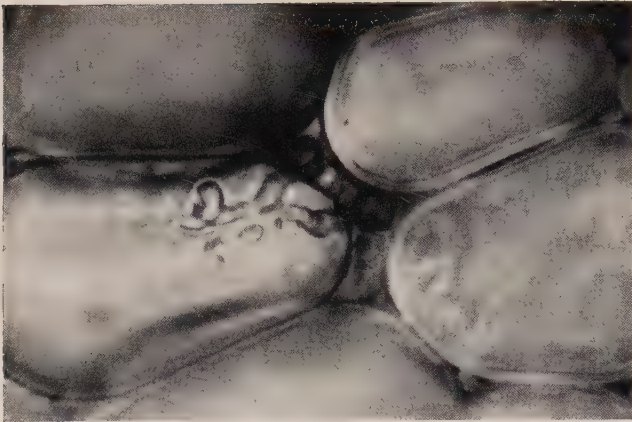


Abb. 11. Hyphen (zum Teil quer geschnitten) und Haustorien von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. in den Interzellularen eines Blütenstengels vom Mohn. Etwa 630  $\times$

tumsstörungen und Krümmungen, wie sie schon auf S. 392 (Abbildung 4) beschrieben wurden.

Bekanntlich werden die Haustorien der Pilze als deformierte Seitenäste des Myzels bezeichnet.

Das *Peronospora*-Haustorium vermag dies auf Grund seiner Größe besonders gut zu demonstrieren. Im Gegensatz zu den übrigen *Peronospora*-

ceen sind die Haustorien der *Peronospora*-Arten auffallend groß, ihre Länge kann 30  $\mu$  und mehr betragen. IKATA und YAMAUTI (1941) ermittelten sogar 200  $\mu$ . Die Haustorien haben bei *Peronospora arborescens* mitunter typische Fingergestalt, während sie im jugendlichen Zustand sackförmig sind (IKATA und YAMAUTI, 1941). Zumeist krümmen sie sich, rollen sich mehrfach ein oder verzweigen sich stark. Die *Peronospora*-Haustorien könnten auf Grund ihrer charakteristischen Gestalt, ebenso wie die Konidienträger, ein wichtiges systematisches Merkmal abgeben. Abb. 12 möge eine Vorstellung von der Größe und Gestalt der Haustorien von *Peronospora arborescens* vermitteln.

Auch von den Wurzeln befallener Mohnpflanzen (Länge etwa 8 cm, Durchmesser in Wurzelhalsregion etwa 7 mm) wurden Quer- und Längsschnitte hergestellt. Während sich normalerweise das Pilzmyzel, in Übereinstimmung mit den Befunden von YOSSIFOVITCH (1929), im Stengel unmittelbar unter der Epidermis, im gesamten Rinden- und Markparenchym sowie zwischen den Leitbündeln (niemals innerhalb der Leitelemente!) ausbreitet, konnte es in der Wurzel immer nur in tieferen Rindenbezirken und sehr häufig in solchen des Zentralzylinders nachgewiesen werden. Andererseits fehlte es selbst in den äußersten Spitzen mehltaukranker Mohnwurzeln nie. Abb. 13 zeigt einen Wurzellängsschnitt, in dem die sich über große Strecken entlangziehenden, interzellulär verlaufenden Myzelstränge samt ihren

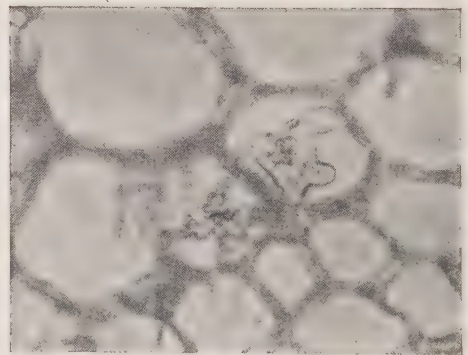


Abb. 12. Haustorium von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. in der Zelle eines Mohnblattes. Etwa 450  $\times$



Haustorien deutlich zu erkennen sind.

Fertigt man Schnitte im Bereich der Ansatzstellen kranker Blätter, d. h. der Spreitenbasis, an, so lassen sich die *Peronospora*-Hyphen immer nur, und zwar in großer Menge, in unmittelbarer Nähe der Blattmittellippe nachweisen (Abb. 14). Findet auch hier ein Eindringen in die Leitbündel nicht statt, so wird doch deren Verlauf beim Vordringen des Pilzes in das Blatt und der späteren Ausbreitung

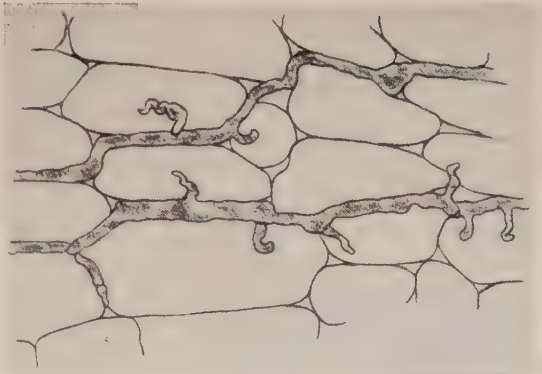


Abb. 13. Längsschnitt durch die Wurzel vom Mohn. Interzellulär verlaufende *Peronospora*-Hyphen und Haustorien, nach Färbung mit Anilinblau. Etwa 450 X

desselben in den Interkostalfeldern als ein natürlicher Weg verwendet. Dabei konnte festgestellt werden, daß sich das *Peronospora*-Myzel immer schon in solchen Teilen des Blattes befand, die äußerlich noch keinerlei Krankheits-symptome erkennen ließen. Auf Querschnitten durch Blätter, deren Unter-seiten ein dichtes „Luftmyzel“ tragen, sieht man, wie die Hyphen des Pilzes das gesamte Mesenchym durchsetzen. Unter teilweiser Zerstörung der Zellen und völliger Auflockerung des ursprünglich festen Zellverbandes, wobei Interzellularräume von erheblichen Ausmaßen entstehen, zwängen sich die Hyphen in jeden Interzellularraum und entsenden in die Zellen ihre Haustorien. Niemals konnte ein Vordringen des Parasiten zwischen die Zellen der oberen oder unteren Epidermis beobachtet werden, während ihn das Palisadenparenchym noch in üppiger Entwicklung beherbergte. Stellt also die

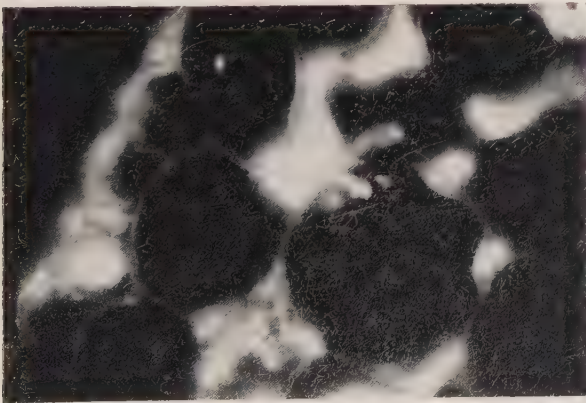


Abb. 14. Hyphen von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. zwischen den Zellen der Mittelrippe eines Mohnblattes (Dunkelfeld). Beachte das Aufleuchten der interzellulär verlaufenden Hyphen und der Haustorien. 400 X

obere und untere Blattepidermis für die *Peronosporineen*, die bekanntlich typische Endoparasiten sind, ein wirksames Abschlußgewebe dar, so dienen doch diese Zellen, da sie in ihrem Innern zahlreiche Haustorien erkennen lassen, immer noch zur Ernährung des Pilzes (Abb. 15). Andererseits lassen sie ihn an bestimmten Stellen, den Spaltöffnungen der Blattunterseiten, mit den

fruktifizierenden, der asexuellen Fortpflanzung dienenden Hyphen ins Freie treten.

Die typische Eigenschaft der *Peronosporineen*, das Wirtsgewebe zur Bildung von Hypertrophien anzuregen, führt beim Falschen Mehltau des Mohns zur Sukkulenz der befallenen Blätter. An Hand von Messungen sollte zunächst festgestellt werden, wie stark die Dickenzunahme des kranken Blattes ist. Um Fehlschlüssen von vornherein vorzubeugen, wurden sämtliche Messungen an den gleichen, partiell befallenen Blättern durchgeführt. Dem



Abb. 15. Mohnblatt quer, von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. befallen. Etwa 360  $\times$

Einwand, die unterschiedliche Blattdicke sei lediglich das Resultat einer nicht einheitlichen Belichtung, Ernährung und anderer äußerer Faktoren, der die verschiedenen Blätter ein und derselben Pflanze ausgesetzt sind, könnte sonst nicht begegnet werden.

Durch gesunde und kranke Areale der gleichen Blattspreiten wurden Querschnitte angefertigt und deren Dicke unter dem Mikroskop bestimmt. Die Dicke eines gesunden Blattes betrug im Mittel von 50 Messungen 167,32  $\mu$ , für das kranke Blatt ergab sich eine solche von 215,89  $\mu$ . Das vom Erreger des Falschen Mehltaus durchwucherte Blatt war also um etwa  $\frac{1}{3}$  (29,1 %) dicker als das gesunde. Die Schnitte ließen weiter erkennen, daß an dem Zustandekommen der Blatthypertrophien allein das Schwamm- und Trichterparenchym beteiligt waren. Besaßen diese im gesunden Blatt eine Mächtigkeit von 95,54  $\mu$ , so waren sie im kranken auf den abnormen Wert von 149,91  $\mu$  angewachsen. Diese um etwa die Hälfte (57,1 %) größere Dicke des erkrankten Gewebes stimmt aber nicht mehr mit der soeben errechneten Dickenzunahme des ganzen erkrankten Blattes überein, die nur

etwa  $\frac{1}{3}$  des gesunden betragen sollte. Die ermittelten Werte behalten aber trotzdem ihre Gültigkeit, tatsächlich kam es nämlich unter dem Einfluß des Parasiten im *peronosporakranken* Blatt gleichzeitig zu einem nicht unbeträchtlichen Schwund des Chlorenchyms, dessen Mächtigkeit um rund 28 % (27,6 %) geringer war als im gesunden Blatt. Während nämlich seine Dicke in diesem 71,78  $\mu$  betrug, erreichte sie in dem vom Pilz durchsetzten Gewebe nur noch eine solche von 51,99  $\mu$ . Trotz dieser Inanspruchnahme der Palisadenzellen, die mit einer deutlichen Chloroplastendegeneration verbunden war, blieb eine Dickenzunahme des gesamten Blattes bestehen, überstieg doch die Hypertrophie des Schwamm- und Trichterparenchyms mit 57,1 % den an den Palisadenzellen eingetretenen Schwund von 27,6 % ganz erheblich. Mit 29,5 % ist sie die Differenz zwischen den Werten für die Dickenzu- bzw.

-abnahme im kranken Blatt und stimmt damit mit dem oben genannten, am Blatt unmittelbar erhaltenen Wert von 29,1 % gut überein.

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen sollte ermittelt werden, ob alle Bestandteile des Blattgrüns gleichmäßig oder nur einzelne Bausteine in ungleich starkem Maße dem Angriff des Parasiten ausgesetzt sind. Daß ein solcher erfolgt, ist makroskopisch an der starken Ausbleichung des betroffenen Blattes zu erkennen, mikroskopisch an der Struktur der Chloroplasten. Letztere sind in den Palisadenzellen kranker Blätter in viel geringerer Anzahl enthalten als in solchen gesunder Blätter, darüber hinaus sind sie nicht mehr von glatt-linsenförmiger Gestalt, sondern haben einen unregelmäßigen Umriß und erscheinen  $\pm$  stark korrodiert (vgl. Abb. 15).

Um die durch *Peronospora* am stärksten geschädigte Komponente des Blattgrüns zu ermitteln, wurden Chlorophyllauszüge hergestellt und mit Hilfe des Pulfrich-Photometers die Lichtdurchlässigkeit der einzelnen Blattgrünfraktionen bestimmt.

Nachdem aus gesunden und kranken (stark chlorotischen) Blättern mit einem Korkbohrer je 25 Scheibchen (Durchmesser 10 mm) ausgestanzt worden waren, wurden sie, getrennt, in Erlenmeyerkölbchen mit 15 cm<sup>3</sup> Methanol übergossen und so lange erwärmt, bis jedes der Scheibchen völlig entfärbt war. In einem Scheidetrichter mit der gleichen Menge Petroläther übergossen, wurde der alkoholische Chlorophyllextrakt vorsichtig geschüttelt, so daß eine Trennung der Chlorophylle von den Karotinoiden eintrat. Da mit einem einmaligen Ausschütteln keine völlige Trennung der beiden Blattgrünfraktionen zu erzielen war, der Alkohol neben den Karotinoiden immer noch Chlorophylle enthielt, mußte dieser noch dreimal mit Petroläther ausgeschüttelt werden, bevor in der Methanolphase die gelben, im Petroläther die grünen Blattgrünanteile sauber getrennt vorlagen.

Man erkannte jetzt, in welchem starkem Maße *Peronospora arborescens* das Blattgrün des Mohns angreift<sup>1)</sup>:  $c_g$  war tief-dunkelgrün,  $k_g$  sattgelb gefärbt,  $c_k$  erschien nur noch sehr schwach grün und  $k_k$  äußerst schwach blaßgelb. Diese Unterschiede wurden noch deutlicher, nachdem mit Hilfe des Pulfrich-Photometers von jedem dieser vier Fraktionen der Extinktionswert (E) bzw. der Faktor der Lichtdurchlässigkeit (D) bestimmt worden war. Betrug D für Methanol oder Petroläther 100 (Kontrollversuch), so nahm die Durchlässigkeit für  $c_g$  den Wert 54,6 an, um bei  $c_k$  wieder auf 63,3 anzusteigen. Ähnlich, aber mit einer größeren Differenz, reagierte die Karotinoidphase, wo bei  $k_g$  der Faktor für D 64,5 betrug und bei  $k_k$  mit 83,5 ein Höchstwert erreicht wurde (vgl. Tabelle 7).

Daraus ist zu sehen, daß die Karotinoide von dem Parasiten stärker in Mitleidenschaft gezogen werden als die grünen Anteile des Chlorophylls. Da einem Wiederholungsversuch fast das Gegenteil hätte entnommen werden können, sollte ein endgültiger Schluß erst nach weiteren Untersuchungen gezogen werden. Andere Lichtintensitätsmessungen, die nur am alkoholischen Auszug des Gesamtchlorophylls gesunder und kranker Mohnblätter durchgeführt worden waren, zeigten, daß der durch den *Peronospora*-Befall bedingte Chlorophyllverlust ein sehr beträchtlicher ist. Tabelle 7, welche alle

1) Im folgenden wird der mit Petroläther extrahierte Chlorophyllanteil der gesunden Blätter mit  $c_g$ , der der kranken Blätter mit  $c_k$  bezeichnet. Entsprechend ist  $k_g$  der mit Methanol extrahierte Karotinoidanteil gesunder,  $k_k$  derjenige kranker Blätter.



Tabelle 7

Faktoren für Extinktion und Lichtdurchlässigkeit, gemessen an Chlorophyllauszügen *peronosporakrank* und gesunder Mohnblätter

(Filter S 61; für Karotinoide S 53; Küvette 0,5 cm)

	E	D
Methanol (Kontrolle)	0	100
Petroläther (Kontrolle)	0	100
alkoholischer Chlorophyllauszug aus gesunden Blättern	1,06	8,9
alkoholischer Chlorophyllauszug aus kranken Blättern	0,29	51,8
$c_g$	0,26	54,6
$c_k$	0,20	63,3
$k_g$	0,20	64,5
$k_k$	0,08	83,5

Anmerkung: E = Extinktion, D = Lichtdurchlässigkeit,  $c_g$ ,  $c_k$ ,  $k_g$  u.  $k_k$  vgl. Fußnote auf S. 313.

am Pulfrich-Photometer ermittelten Werte zusammenfaßt, ist zu entnehmen, daß die Lichtdurchlässigkeit des Extraktes kranker Blätter rund sechsmal so groß ist wie diejenige nichtbefallener, normal-grüner Blätter.

Die Ursache der im Gefolge einer Mehltauinfektion auftretenden Gewebschlorosen konnte an Hand von Blattquerschnitten mikroskopisch aufgedeckt werden. Darüber hinaus war es möglich, über den Chlorophyllverlust, den das kranke Blatt erleidet, einige quantitative Angaben zu machen. Wenn auch die *Peronosporineen* als obligate Parasiten das von ihnen besiedelte Wirtsgewebe nicht sofort abtöten, es vielmehr zunächst zu einem lokal gesteigerten Wachstum anregen, so dürfte doch der später eintretende Tod zum großen Teil auf den erheblichen Schaden, der dem Chlorophyllapparat zugefügt wird, zurückzuführen sein. Mit dem Absterben des Wirtes aber wäre auch das Schicksal des Pilzes besiegelt, sofern er nicht saprophytisch zu leben vermag. Daß die Konidien von *Peronospora arborescens* nicht in der Lage sind, ohne Verbindung mit der Wirtspflanze die Keimfähigkeit auf längere Zeit zu erhalten und infektionstüchtig zu bleiben, wurde schon erwähnt (vgl. S. 297 bis 298). Da aber der Pilz im absterbenden Wirtsgewebe in ungeheuren Mengen Oosporen bildet, lag die Vermutung nahe, daß es diese sind, die zur Überbrückung ungünstiger Lebensabschnitte dienen, nach Überstehen derselben wieder auskeimen und auf diese Weise die Infektkette fortsetzen. In einem folgenden Abschnitt soll daher die Frage, wie *Peronospora arborescens* die vegetationslose Zeit überdauert, zur Debatte gestellt werden.

## E. Die Epidemiologie des Mehltauerregers

### a) Allgemeines

Bekanntlich scheidet man die Sporen der Pilze in zwei Gruppen: während die propagativen, zumeist dem Haplonten angehörenden Sporen zur Ausbreitung der Art dienen, haben die in der Regel diplontischen Dauer-

sporen die Aufgabe der Überwinterung, d. h. der Arterhaltung. Sind die Oosporen der *Peronosporaceae* zweifellos Sporen letztgenannter Art, so ist damit nicht gesagt, daß sie sich in jedem Falle zur Überwinterung des Pilzes eignen. Bei *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et de Toni und einer *Phytophthora*-Art, die in Nordamerika an *Ilex* starke Zweigschäden verursacht, sollen die Oosporen die Funktion von Überwinterungsorganen haben bzw. zum Überstehen des trockenen Sommers dienen (ARENS, 1929, BUDDENHAGEN und ROY, 1954). Dasselbe wird von den Oosporen der *Peronospora tabacina* Adam angenommen (DIXON, McLEAN und WOLF, 1935) sowie von vielen *Pythium*-Arten und von *Phytophthora omnivora* de By. beschrieben (DE BARY, 1881 b). Ob auch *Peronospora arborescens* mit diesen Organen den Winter überdauert, war aus der Literatur nicht zu ersehen, ein einziges Zitat weist darauf hin, daß dieser Pilz die vegetationslose Zeit mit Hilfe seiner Oosporen in *Meconopsis betonicifolia* Franch. überdauern soll (ALCOCK, 1933).

Bevor über die eigenen Versuche, die sich mit der Frage der Arterhaltung von *Peronospora arborescens* befassen, berichtet werden soll, seien einige Bemerkungen über die Entstehung und den Bau der Oosporen dieses Pilzes gemacht.

#### b) Entstehung und Bau der Oosporen

Während einige *Peronosporaceen* nur unter besonders günstigen Bedingungen Oosporen ausbilden (z. B. *Peronospora brassicae* Gäum., BREMER, 1953), sollen sie bei *Plasmopara viticola* in reichlicher Menge entstehen. Nach ARENS (1929) kommen auf 1 mm<sup>2</sup> Blattfläche bis zu 250 Oosporen vor. Die Oosporenbildung wurde besonders dann gefördert, wenn das vegetative Wachstum des Pilzes gehemmt war. Dies brauchte nicht erst im Herbst, d. h. mit dem allmählichen Abklingen der Vegetationsperiode, zu sein, *Plasmopara*-Oosporen wurden vielmehr während des ganzen Jahres gebildet (ARENS, 1929). Bei *Peronospora arborescens* entstehen die Oosporen in dem Maße, wie die von dem Pilz besiedelten Blätter, Stengel und andere Gewebe absterben, d. h. sich schwarz verfärben und verrotten. Grüne oder unter dem Einfluß des Pilzes ausgebleichte Blattpartien enthalten noch keine Oosporen, auch dann nicht, wenn blattunterseits ein noch sehr dichter, frischer Rasen aus Konidienträgern wächst (vgl. dasselbe bei *Sclerospora*, SAFEULLA und THIRUMALACHAR, 1955). Im Durchschnitt von etwa 100 Auszählungen bildete *Peronospora arborescens* 327 Oosporen je mm<sup>2</sup> befallenen Gewebes.

Bekanntlich geht die Oospore aus dem befruchteten Oogonium hervor, wenn sich dieses nicht, wie es bei *Saprolegnia* der Fall sein kann (WEMMER, 1954), parthenogenetisch weiterentwickelt. Ein derartiger Reifeprozess scheint für *Peronospora arborescens* nicht zuzutreffen, denn immer war es möglich, neben den Oogonien oder auch reifenden Oosporen das Antheridium zu finden. Abbildung 16 zeigt zweimal ein und dasselbe Oogonium mit anliegendem und aufliegendem Antheridium. Auf Abbildung 17 ist eine Oospore mit seitlich anliegendem Antheridium zu sehen, das den Befruchtungsschlauch auf das Ei vorgetrieben hat.

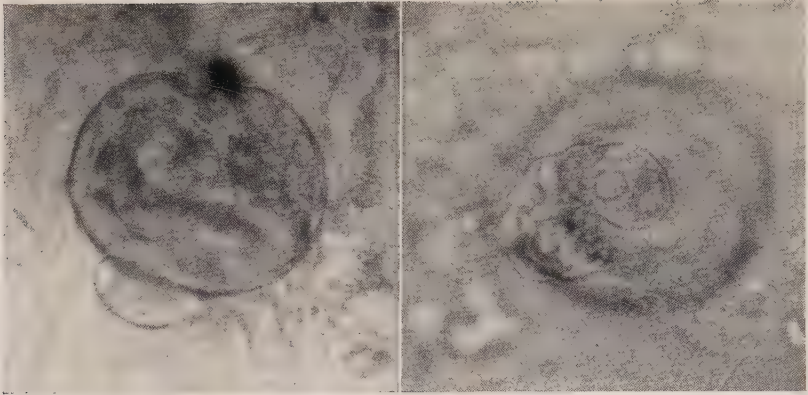


Abb. 16. Links: Oogonium von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. mit anliegendem Antheridium. Rechts: dasselbe Oogonium, jetzt mit aufliegendem Antheridium. Etwa 900  $\times$

Obwohl schon DE BARY in seinen exakten Beobachtungen, die er an einer größeren Zahl von *Peronosporaceen* anstellte, für *Peronospora arborescens* keine Heterothallie (Diözie) nachweisen konnte (DE BARY, 1881 a), sollte dieser Frage noch einmal experimentell nachgegangen werden. Es gelang, sie an Hand zahlreicher Einzelkonidien-Infektionen zu lösen.

Eine Konidiensuspension (Herkunft „Schlanstedt“), hergestellt mit aqua dest. pH 6,5, wurde so lange verdünnt, bis die Mehrzahl der mit einer spitzen Feder auf ein Deckglas gesetzten Tröpfchen nur eine Konidie enthielt. Solche Tröpfchen wurden mittels einer äußerst fein ausgezogenen Pipette aufgenommen und in den Vegetationskegel etwa 60 Tage alter *Papaver*-Sämlinge übertragen.

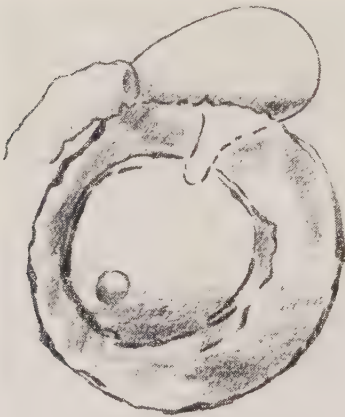


Abb. 17. Oospore von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. mit Antheridium und noch deutlich sichtbarem Befruchtungsschlauch. Etwa 1350  $\times$

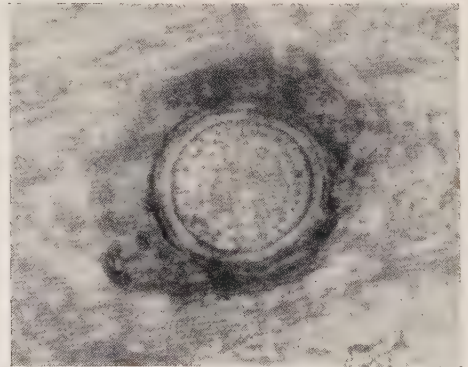


Abb. 18. Oospore von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By., entstanden nach Einzelkonidien-Infektion. Etwa 900  $\times$

Die Infektionen hafteten nur zum geringen Teil. So gelangen im ersten derartigen Versuch von insgesamt 16 ausgeführten Infektionen zwei, bei der Wiederholung waren von 37 nur zwei angegangen. Die kranken Mohnsäm-



linge wurden weiterkultiviert; um den Zuflug fremder Konidien zu verhüten, standen sie in Einzelkabinen. Etwa vier Wochen nach Beginn des Versuchs gingen sie langsam ein. Bei der mikroskopischen Kontrolle, die anschließend an allen absterbenden Teilen der Sämlinge vorgenommen wurde, konnten in diesen in großer Anzahl Oosporen gefunden werden. Sie befanden sich weniger in den Spreiten als in den Mittelrippen der absterbenden Blätter sowie in den Stengeln. Niemals gelang es, sie in Wurzelorganen zu finden. Abbildung 18 zeigt eine Oospore, die auf dem Wege solcher Einzelkonidien-Infektionen entstanden war. Damit war der Nachweis erbracht bzw. die von DE BARY (1881 a) geäußerte Meinung bestätigt, daß *Peronospora arborescens* tatsächlich ein homothallischer Organismus ist. Für alle Arten der Gattung *Peronospora* trifft dies keineswegs zu, *P. parasitica* de By. soll z. B. homo- und heterothallisch vorkommen (DE BRUIJN, 1935).

Die Oogonien und das dicke Exo- und Endospor der Oosporen von *Peronospora arborescens* sind rund, das ihr aufliegende Epispor ist eckig begrenzt (Abb. 19). YOSSIFOVITCH (1929) ermittelte den Durchmesser der Oogonien mit 37 bis 41  $\mu$ , derjenige der Oosporen schwankte zwischen 24 und 26  $\mu^1$ , nach VIENNOT-BOURGIN (1949) zwischen 25 und 40  $\mu$ . In eigenen Messungen ergab sich für den Oosporendurchmesser ein mittlerer Wert von 30,4  $\mu^2$ .

Über den Vorgang der Eireifung sowie der Befruchtung des Oogoniums wurden keine eigenen Untersuchungen angestellt (vgl. darüber DE BARY, 1881 a). Um so umfangreicher waren die Versuche, die Oosporen zum Keimen zu veranlassen. Da sie in der mehltaukranken Pflanze in so großen Mengen und in den befallenen Geweben genau in dem Moment entstehen, wo diese beginnen abzusterben, lag es nahe, in den Oosporen die Überwinterungsorgane des Pilzes zu suchen. In diesem Zusammenhang verdient darauf hingewiesen zu werden, wie rasch nach der Infektion und unter welchen einfachen Versuchsbedingungen die Oosporenbildung veranlaßt werden kann.

Die Unterseiten etwa 4 cm langer und 1 cm breiter Mohnblätter von 50 Tage alten Sämlingen wurden mit einer wäßrigen Konidiensuspension von *Peronospora arborescens* (Herkunft „Schlanstedt“) besprüht und in Feuchtkammern (mit nassem Fließpapier ausgelegte Petrischalen) bei 19° C aufbewahrt.

- 1) Die von YOSSIFOVITCH gemessenen Oosporen sind kleiner als die Oogonien. Vielleicht hat YOSSIFOVITCH bei der Messung das Epispor der Oosporen nicht berücksichtigt.
- 2) Die Zahl der Messungen anzugeben ist nicht mehr möglich.

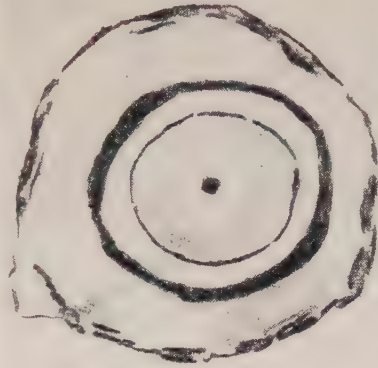


Abb. 19. Oospore von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. mit Endo-, Exo- und Epispor. 1440  $\times$

Nach drei oder vier Tagen hatte sich noch kein Sporangienträgerrasen entwickelt. Die Blätter erschienen aber ölig-durchsichtig und ließen unter dem Mikroskop interzellulär verlaufendes Myzel, für *Peronospora* typische Haustorien und zahlreiche, noch unreife Oosporen erkennen.

Daß das Resultat speziell dieses Versuches den Gedanken der Oosporen-überwinterung nahelegte, ist verständlich, kann doch das isolierte, von der Pflanze abgetrennte Mohnblatt dem Pilz einen nur geringen, von vornherein begrenzten Vorrat an Nährstoffen bieten. Ein schwaches intramatrikales Myzel auszubilden war er noch in der Lage, eine Fruktifikation (Konidienbildung) kam aber nicht mehr zustande. Dafür schritt der Pilz, um seiner Vernichtung zu entgehen, zur sexuellen Fruktifikation und bildete Oosporen und Antheridien (auch letztere wurden im mikroskopischen Präparat gefunden), aus denen nach erfolgter Befruchtung die Zygoten hervorgingen.

Sollte diese Deutung zutreffen und die Oosporen von *Peronospora arborescens* tatsächlich als Ruheorgane zur Überbrückung der vegetationslosen Zeit dienen, so müßte es möglich sein, sie nach überstandener Ruheperiode zum Auskeimen und zum erneuten Ausbruch der Krankheit zu veranlassen. Im folgenden sei über die Versuche, die sich mit der Keimung der *arborescens*-Oosporen befaßten, berichtet.

### c) Versuche zur Keimung der Oosporen

Wie aus der Literatur ersichtlich ist, haben zahlreiche Versuche, die Oosporen der *Peronosporaceen* und verwandter Familien (z. B. *Saprolegniaceae*) zum Keimen zu veranlassen, zum Erfolg geführt. Bei *Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berl. et de Toni erfolgt die Keimung nach Ablauf der winterlichen Ruheperiode, die um so kürzer ist, je weiter die Jahreszeit fortgeschritten ist; das sich ausstülpende Endospor bildet einen dünnwandigen Keimschlauch, der an seinem Ende eine Konidie trägt (ARENS, 1929). DE BARY beobachtete das Auskeimen der *Cystopus*-Oosporen, das nach einer bis in den Dezember dauernden Ruheperiode mit der Bildung eines großen Zoosporangiums erfolgte (DE BARY, 1863). Später berichtete er über den Vorgang der Oosporenkeimung mehrerer *Saprolegnia*-, *Pythium*- und *Peronospora*-Arten sowie von *Phytophthora omnivora* de By. (= *P. cactorum* [L. et C.] Schroet.), wo die Weiterentwicklung der Zygoten auch erst nach Überstehen der Wintermonate einsetzte, in einigen Fällen jedoch schon zeitiger erzwungen werden konnte. Über die Keimung der Oosporen von *Peronospora arborescens* äußerte sich DE BARY nicht (1881 a, 1881 b). Auch DRECHSLER (1952) gelang die Keimung von *Pythium*-Oosporen; bei *P. de Baryanum* Hesse und *P. ultimum* Trow kam es bei etwa 28 ° C zur Bildung eines Myzels, zwischen 10 und 17 ° C wurden Zoosporen gebildet. Die Oosporen von *Aphanomyces raphani* Kendr., des Erregers der Rettichschwärze, entwickelten nach HEROLD (1952) einen Keimschlauch, dem gleichen Autor glückte die Oosporenkeimung an weiteren *Aphanomyces*-Arten, nämlich an *A. laevis* de By. und *A. euteiches* Jones et Drechsl. Daß die Ruheperiode der Zygosporen von *Saprolegnia ferax* (Gruith.) Kützg. durch die Einwirkung von Licht oder verschiedener Temperaturen nicht zu beein-

flussen ist, die Keimgeschwindigkeit und Keimrate jedoch durch mäßiges Tageslicht erhöht werden kann, beobachtete WEMMER (1954). Auch *Phytophthora*- und *Peronospora*-Oosporen ließen sich zum Keimen bringen. Während erstere zu Keimschläuchen mit typischen Sporangien auswuchsen (JOHNSON und VALLEAU, 1954), gelang die Keimung selbst fünf bis sechs Jahre alter Zygoten von *Peronospora schleideniana* de By. (— *P. schleideni* Ung.) innerhalb von 48 Stunden, wenn sie bei 15 bis 20 °C in einer 0,01- bis 0,02%igen wäßrigen  $\text{KMnO}_4$ -Lösung gelegen hatten (McKAY, 1937). PERSON und LUCAS (1953) und LUCAS und PERSON (1954) experimentierten mit Oosporen von *Peronospora tabacina* Adam, die ein sitzendes Sporangium entwickelten und an Tabaksämlingen zu heftigen Erkrankungen führten. Zuletzt sei auf die Oosporen von *Sclerospora sorghi* (Kulk.) Weston et Uppal hingewiesen. Auch sie keimten, denn SAFEEULLA und THIRUMALACHAR verwendeten sie erfolgreich in ihren Infektionsversuchen an *Sorghum vulgare* Pers. (1955). Die eigenen, an Oosporen von *Peronospora arborescens* angestellten Keimversuche fielen negativ aus. Hierüber sei im folgenden berichtet, zunächst jedoch über die Art und Weise, wie die Gewinnung und Aufbereitung der Oosporen vor sich ging.

An Hand von Querschnitten, die durch *peronosporakranke* Blüten- und Kapselstengel angefertigt worden waren, sah man, daß das Myzel des Pilzes tief in das Stengelgewebe vordrang, solange dieses noch jung und noch nicht durch einen unter der subepidermalen, chlorophyllführenden Zellschicht verlaufenden Sklerenchymring gefestigt war. Ganz anders verhielten sich die Oosporen: sie wurden im Stengel nur in den allerobersten Gewebeschichten, also unmittelbar unter der Epidermis, gefunden (Abb. 20). Da sie dort ständig in sehr großer Zahl gebildet wurden, konnten die mehltauakranken Blüten- und Kapselstengel des Mohns in allen weiteren Versuchen als Ausgangsmaterial zur Gewinnung von Oosporen verwendet werden.

Ihre Aufbereitung geschah durch sorgfältiges Abkratzen der Stengelepidermis und einiger darunterliegender Zellschichten mit einem Skalpell. Ergab die mikroskopische Kontrolle der Späne eine für die in Aussicht genommenen Arbeiten ausreichende Menge von Oosporen, so wurden diese durch ein sehr feines Sieb gegeben, so daß ein fast reiner „Oosporenstaub“ entstand, als Rückstand ein etwas gröberes, oosporenverseuchtes Material



Abb. 20. Topographie der Oosporen von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. im verholzten Kapselstengel des Mohns (Oosporen nur in der äußeren Rinde). Etwa 150 ×



verblieb. Beide „Fraktionen“ wurden in Pulverflaschen gefüllt und im Kühlschrank bei  $+ 2^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt.

In den nun zu schildernden Keimungsversuchen waren nach DE BARY (1881 a) folgende vier Keimungsmodi zu erwarten:

- a) entweder wird die Oospore zum Sporangium, oder
- b) sie treibt einen Keimschlauch, der terminal ein Sporangium oder
- c) mehrere Sporangien bildet;
- d) die Oospore wächst zu einem vegetativen Myzel aus.

1. Versuch: Da von mehreren *Peronosporaceen* bekannt ist (DE BARY 1863, 1881 b), daß ihre Oosporen allein nach Übersichten mit Wasser oder durch Aufschwemmen in flachen Wassertröpfchen keimen, wurden *arborescens*-Oosporen bei  $19^{\circ}\text{C}$  in aqua dest. (pH 6,5) in Erlenmeyerkölbchen am Licht aufbewahrt. Zur ständigen Kontrolle befanden sich andere Oosporen unter sonst gleichen Versuchsbedingungen, jedoch im Dunkeln, im Hängetropfen, wo sie laufend auf ihre Weiterentwicklung hin beobachtet werden konnten.

Nach 48 Stunden war weder eine Keimung noch irgendwelche Veränderung an den Oosporen erfolgt. Auch nach noch längerer Expositionszeit hatte sich an diesem Ergebnis nichts geändert.

In Anlehnung an YARWOOD (1943) und die eigenen an *arborescens*-Konidien durchgeführten Versuche (vgl. S. 300) wurde aus frischen Mohnblättern ein Preßsaft hergestellt, mit aqua dest. auf 2,5 % verdünnt, im Autoklaven eine halbe Stunde bei  $120^{\circ}\text{C}$  sterilisiert und — wie oben geschildert — mit Oosporen zur Keimung aufgestellt. Im Dunkeln wie am Tageslicht erfolgte keine Weiterentwicklung derselben, auch nicht, wenn dem Keimmedium (reines Wasser oder 2,5%iger Mohnblattpreßsaft) 0,01 %  $\text{KMnO}_4$  zugefügt wurde, womit McKAY (1937) eine Keimung fünf bis sechs Jahre alter Oosporen von *Peronospora schleideni* Ung. erzielt hatte.

Einjähriger „Oosporenstaub“ wurde auch zu etwa gleichen Teilen mit zerkleinertem, trockenem Mohnlaub gemischt und in 25-cm<sup>3</sup>-Erlenmeyerkölbchen gegeben. Den Boden in flacher Schicht bedeckend, wurde das Gemisch so lange mit aqua dest. versetzt, bis es genügend angefeuchtet war.

Nachdem ein Teil der mit Wattestopfen verschlossenen Kölbchen 14 Tage im Dunkeln bei  $19^{\circ}\text{C}$ , die andere Hälfte bei  $+ 2^{\circ}\text{C}$  im Kühlschrank gestanden hatte, war auch hier keine Keimung der Oosporen eingetreten.

2. Versuch: Hier fand die von ARENS (1929) erdachte Methode Anwendung. Quer zu einem in einer Petrischale befindlichen Objektträger wurde ein etwa 1 cm breiter Seidenpapierstreifen gelegt. Er tauchte mit seinen Enden in aqua dest. (pH 6,5), welches den Boden der Schale in sehr flacher Schicht bedeckte, jedoch den Objektträger nicht überspülte. Auf den mittleren, mit dem Wasser nicht direkt in Berührung stehenden Teil des Papierstreifens wurden Oosporen aufgestäubt, die sieben Monate lang bei  $+ 2^{\circ}\text{C}$  im Kühlschrank gestanden hatten.

In wöchentlich durchgeführten Kontrollen konnte auch nach einer Versuchsdauer von insgesamt sechs Monaten keine Keimung der Oosporen beobachtet werden. Die Temperatur im Laborraum schwankte um einen mittleren Wert von  $19^{\circ}\text{C}$ .

3. Versuch: Der Gedanke, die Oosporenruhe durch gleichzeitiges Auskeimen der Mohnsamen zu beeinflussen, führte zu einem Versuch, bei welchem Wasseragar als Keimmedium Verwendung fand. HOLTON (1943) war es nämlich gelungen, die Sporen des Zwergsteinbrandes (*Tilletia nanifica* [Wagn.] Sävil. = *T. nanifica* Wagn.) auf solchem zum Keimen zu veranlassen.

Oberflächlich schwach angefeuchteter Mohnsamen wurde mit „Oosporenstaub“ eingepudert, in Petrischalen auf Wasseragar (2%ig) ausgelegt und die Schalen bei 19° C im Dunkeln aufgestellt. Nach siebentägiger Wartezeit wurde jeder der gekeimten Mohnsamen mikroskopisch untersucht.

Wie vorausszusehen war, hatte sich, von den Samenschalen ausgehend, eine üppige Mikrobenflora entwickelt, die in der Hauptsache aus *Helminthosporium papaveris* Hennig bestand; sämtliche *Peronospora*-Oosporen haften hingegen noch ungekeimt auf der Oberfläche der Mohnsamen.

4. Versuch: Es ist bekannt, daß auch die Keimung der Überwinterung dienenden Brandsporen von *Tilletia tritici* (Bjerk.) Wint. von mancherlei Einflüssen abhängig ist und mitunter nur schwach oder stark verzögert erfolgt. Keimauslösend wirkten eine Reihe von Salzen und Säuren, die HAHNE (1925) gegenüber *Tilletia*-Sporen in ähnlicher Weise prüfte wie DAVIS (1923) an Brandsporen von *Ustilago striiformis* (West.) Niessl. Die Wahrscheinlichkeit, daß einige dieser Stoffe auch auf die Oosporen von *Peronospora arborescens* keimungserhöhend wirkten, war nicht von der Hand zu weisen. Gleichzeitig mußte berücksichtigt werden, daß mitunter die Oosporen der *Peronosporaceen* eines zweiten Winters bedürfen, um ihre Ruhezeit zu überwinden.

Mit ein und zwei Jahre altem „Oosporenstaub“ inkrustierte Mohnsamen wurden in Petrischalen gelegt, deren in der Bodenschale liegendes Fließpapier

- a) mit aqua dest. (pH 6,5),
- b) mit aqua dest. (pH 6,0),
- c) mit 0,5 %  $H_2SO_4$  (pH 2,5),
- d) mit 0,001% Zitronensäure (pH 3,0) und
- e) mit 0,1% KOH (pH 8,5) getränkt war.

Die Aufstellung der verdunkelten Schalen erfolgte bei 19° C (die Temperatur blieb in diesem Versuch nicht ganz konstant).

Nach vier Tagen waren sämtliche Mohnsamen aller Schalen, mit Ausnahme der mit  $H_2SO_4$  vorbehandelten, gekeimt, an den Oosporen konnte dagegen keine Veränderung festgestellt werden. Der Versuch wurde schließlich am elften Tage abgebrochen, da sich die Oosporen auch jetzt noch nicht weiterentwickelt, dafür aber in den einjährigen Oosporen eine üppige Verpilzung durch *Helminthosporium papaveris* Hennig eingetreten war.

5. Versuch: STOLL (1949) beseitigte die Keimungshemmung der Chlamydosporen von *Ascochyta pinodella* Jones mittels eines Temperaturschockes, ähnlich unterwarf VON GAVEL (1951) die Sporen eines Stammes von *Bacillus subtilis* Cohn em. Prazmowski einer Hitze einwirkung und regte sie somit zum Auskeimen an. Es wurde versucht, letzteres auf ähnliche Weise auch an den *Peronospora*-Oosporen herbeizuführen.

Zu diesem Zwecke wurden 500 g Mohnstengel und -blätter mit 3 l Wasser zwei Stunden lang gekocht. Nach Filtration und erneutem Auffüllen auf das ursprüngliche Flüssigkeitsvolumen wurde daraus ein 2%iger Agar hergestellt, dieser dreimal im Dampftopf sterilisiert und schließlich auf Röhrchen abgefüllt. Nach Abkühlung des Agars wurde jedes der Röhrchen mit einer Spatelspitze „Oosporenstaub“ (der sechs Monate lang bei + 2° C im Kühlschrank gelegen hatte) beschickt und sodann der Agar

- a) 1 Std. lang im strömenden Dampf,
- b) während 5 Min. bei 90° C,

- c) während 5 Min. bei 80 ° C,
- d) während 5 Min. bei 70 ° C,
- e) während 5 Min. bei 60 ° C verflüssigt.
- f) In einer letzten Serie von Röhrchen wurden die Oosporen zum gerade noch flüssigen Agar gegeben.

Von jedem der so behandelten Röhrchen wurden sodann Platten gegossen und diese im Dunkeln bei 19 ° C bebrütet. Die endgültige Beurteilung des Versuches erfolgte nach neun Tagen.

Während alle Oosporen noch unverändert im Agar lagen, zeigte der auf 100 ° C erhitzte nur wenig Bakterienkolonien und äußerst schwachen Pilzbewuchs; in allen anderen Versuchsreihen wies der Agar eine bedeutend stärkere Mikrobenbesiedlung auf, bei den Platten der Versuchsserie „e“ (60 ° C) war sie äußerst üppig.

6. Versuch: Bisher wurde das Schicksal der zur Keimung verwendeten Oosporen über eine Zeitspanne von maximal einem halben Jahr verfolgt. Vielleicht benötigen die Oosporen eine noch längere Zeit, um aus der Keimruhe in den Zustand der Lebenstätigkeit überführt zu werden?

Je eine Skalpellspitze eines einjährigen „Oosporenstaubes“ wurde in Lösungen verschiedener chemischer Zusammensetzung gegeben und die einander entsprechenden, mit Wattestopfen verschlossenen Erlenmeyerkölbchen bei 23 ° C im Brutschrank bzw. + 2 ° C im Kühlschrank (beide im Dunkeln) aufgestellt.

Folgende Lösungen wurden benutzt:

Raulin, Raulin-Thom, Asparagin-Nährlösung nach Wöltje, dieselbe nach Janke, Czapek-Dox und Knop (JANKE 1946). Die Kontrollversuche liefen in Leitungswasser und in aqua. dest. (pH 6,5). Schließlich wurde auch hier noch einmal (vgl. S. 320) als Keimmedium Leitungswasser bzw. aqua dest. verwendet, das einen Zusatz von 0,01 %  $\text{KMnO}_4$  erhalten hatte.

Die mikroskopische Untersuchung der Oosporen erfolgte in vierwöchentlichen Abständen. Da die ersten fünf der genannten Nährösungen bereits zwei Monate nach Versuchsbeginn (im Kühlschrank etwas später) starke Verpilzung durch Fremdorganismen aufwiesen, mußten sie aus dem Versuch ausscheiden. Die übrigen Medien blieben sauber; da sie aber im Brutschrank allmählich verdunsteten, mußte regelmäßig für die Konstanthaltung der ursprünglich verabreichten Flüssigkeitsmenge gesorgt werden. Als nach 18 Monaten an den Oosporen in keinem der verbliebenen Keimmedien eine Veränderung wahrgenommen werden konnte, wurde der Versuch abgebrochen.

7. Versuch: Wurden bisher für die Keimungsversuche nur solche Oosporen verwendet, die über mehr oder weniger lange Zeit im Kühlschrank gelegen hatten, so sollten nunmehr die Oosporen auf die Dauer eines Jahres den natürlichen Witterungseinflüssen des Freilandes ausgesetzt werden.

Gesiebte Komposterde wurde mit „Oosporenstaub“ gut vermischt, mit Leitungswasser schwach angefeuchtet und in 16 25-cm<sup>3</sup>-Erlenmeyerkölbchen gefüllt. Diese wurden mit Wattepfropfen verschlossen und bis zum „Hals“ in ein Beet des Institutsgartens versenkt. Durch gelegentliches Ergänzen des nur schwach verdunstenden Wassers wurde die Feuchtigkeit des Keimmediums möglichst mit der des natürlichen Bodens auf gleicher Höhe gehalten.

Da die Oosporen bei dieser Versuchsanordnung nicht in direkte Berührung mit dem Bodenwasser, Schnee usw. kamen, dies aber auf ihr Auskeimen von



entscheidendem Einfluß sein kann, wurde ein weiterer, zeitlich parallel laufender Versuch angelegt:

Oosporenhaltige Kapselstengel wurden zerkleinert, zu einem flachen Haufen aufgeschichtet und bis zum nächsten Jahr, dem natürlichen Witterungsablauf ausgesetzt, sich selbst überlassen („Oosporenkompost“).

Der Versuch lief vom Oktober 1952 bis zum August 1953. Nach drei Monaten wurden zum ersten Male zwei Kölbchen dem Beet entnommen, die übrigen zu je zwei im Abstand von vier Wochen. Die mikroskopische Untersuchung ihres Inhaltes und der kompostierten Mohnstengel, die in den gleichen Zeitintervallen portionsweise ins Labor geholt wurden, ergab in allen Fällen das gleiche: die Oosporen waren nicht gekeimt.

8. Versuch: Es wurden auch Infektionsversuche durch Einfügen von Oosporen in sterile Stengelwunden dicht über dem Wurzelhals der Mohnsämlinge angesetzt. Verwendung fanden frische und solche Oosporen, die ein halbes Jahr lang bei  $+2^{\circ}\text{C}$  im Kühlschrank gelegen hatten. Die Wunden waren anfänglich mit feuchter Watte umgeben, sie wurde 48 Stunden nach Versuchsbeginn entfernt.

Nach weiteren 14 Tagen mußte an Hand von Querschnitten, die unmittelbar durch die Infektionsstelle sowie ober- und unterhalb derselben gelegt wurden, festgestellt werden, daß die Oosporen noch ungekeimt in den langsam verheilenden Wunden lagen.

#### d) Verseuchungsversuche

Da alle bisherigen Versuche, die Oosporen von *Peronospora arborescens* zum Keimen zu veranlassen, fehlschlugen, war es auch nicht möglich, sich eine eigene Ansicht über die Art des Keimungsmodus (vgl. S. 320) zu bilden. Aus dem gleichen Grunde muß die von YOSSIFOVITCH (1929) aufgeworfene Frage, ob die gelegentlich auftretenden unverzweigten Konidienträger einer gekeimten Oosporen entstammen (vgl. S. 291), unbeantwortet bleiben. Im übrigen stellen die Dauersporen von *Peronospora arborescens* mit ihrer durch nichts zu beeinflussenden Ruheperiode keinen Ausnahmefall dar: auch die Keimversuche an Oosporen von *Albugo candida* (Pers.) Ktze. führten in den Untersuchungen von TAKESHITA und LINN (1953) zu negativen Ergebnissen (vgl. dagegen DE BARY, 1863, S. 318).

Daraus den Schluß zu ziehen, die Oosporen der *Peronospora arborescens* keimen nie und seien deshalb zur Überwinterung des Parasiten nicht geeignet, wäre falsch, zumindest voreilig. Wenn auch festgestellt werden mußte, daß die Oosporenruhe selbst in Gegenwart keimender Mohnsamen nicht aufgehoben werden konnte (vgl. S. 320—321), so waren dies doch Ergebnisse, die, mit Ausnahme des Versuches 7, an Hand von Laborversuchen und nicht unter natürlichen Bedingungen erhalten wurden. Die zahlreichen Keimversuche, die PERSON und LUCAS (1953) an den Oosporen von *Peronospora tabacina* Adam durchführten, schlugen zunächst auch fehl, und zwar so lange, bis die beiden Autoren oosporenhaltige Blätter in die obersten Schichten eines sterilisierten Bodens legten und anschließend Tabak hineinsäten. Etwa einen Monat nach Ansetzen des Versuches hatten die Oosporen sitzende Sporangien

entwickelt, deren Zoosporen zum Ausbruch der Krankheit führten (LUCAS und PERSON, 1954). Ähnlich verfuhrn SAFEEULLA und THIRUMALACHAR (1955) mit den Oosporen von *Sclerospora sorghi* (Kulk.) Weston et Uppal. Jedoch schlossen diese beiden Autoren nur indirekt, nämlich aus den positiv ausgefallenen Infektionsversuchen, auf eine Oosporenkeimung.

In den eigenen Versuchen wurde Mohnsamen („Schlanstedter“) 18 Stunden in Petrischalen vorgequollen, durch Schütteln in einjährigem (im Kühlschrank bei + 2° C aufbewahrt) sowie frisch aufbereitetem „Oosporenstaub“ (Herkunft „Aschersleben“) inkrustiert und in Aussaatschalen in Komposterde ausgelegt. In den entsprechenden Kontrollversuchen blieben die Samen unverseucht. Während die Hälfte der Schalen in einem Kalthaus (etwa 15° C) Aufstellung fand, wurde der Rest in Freilandbeete eingesenkt. Der Versuch begann im Dezember 1952 und endete Mitte März des nächsten Jahres.

Schon vier Tage nach der Aussaat keimte der im Gewächshaus aufgestellte Mohn. Die Sämlinge wurden laufend auf Mehлтаubefall kontrolliert und in einem zeitlichen Abstand von ungefähr einer Woche aus der Erde gezogen, um an Hand solcher Stichproben mikroskopisch die Weiterentwicklung der Oosporen beurteilen zu können. Teils hafteten sie noch an der Testa, teils an den Wurzeln. War es öfter zu spontanem *Helminthosporium*-Befall gekommen, so hatte sich andererseits keine einzige Oospore zur Keimung angeschickt.

Der im Freien gestandene Mohn war 30 Tage nach der Aussaat gekeimt, anschließend trat Frost ein. Nach weiteren drei Wochen wurden die Schalen ins Gewächshaus gestellt, wo sich die Mohnsämlinge weiterentwickelten. Bis zum Abbruch des Versuches (elf Wochen nach Beginn desselben) hatten jedoch die Oosporen, wie die mikroskopische Kontrolle ergab, in ihrer Keimruhe verharret.

Zum gleichen Ergebnis führte ein in der Durchführung etwas abgeänderter Versuch:

Nachdem die Aussaatschalen mit gesiebter Erde gefüllt und mit frischem und einjährigem „Oosporenstaub“ (Herkunft „Aschersleben“) bestreut worden waren (Kontrollen blieben unverseucht), wurden sie während der Spätsommer-, Herbst- und Wintermonate in Freilandbeeten eingesenkt. Einige der Schalen wurden nach drei Monaten, die weiteren in zwei- bis dreiwöchigen Abständen ins Kalthaus geholt und die Erde in Reihensaat mit Mohnsamen besickt.

Da alle Sämlinge gesund blieben und die Oosporen sich nicht weiterentwickelten, konnte der Versuch nach einer Dauer von insgesamt sechs Monaten abgebrochen werden. Auch wenn der auf S. 323 erwähnte, frisch aufbereitete oder einjährige „Oosporenkompost“ zur Verseuchung benutzt worden war, änderte sich an dem Ergebnis nichts.

Nachdem auch diese Keimversuche einen negativen Erfolg gezeitigt hatten, bestand kaum noch ein Zweifel daran, daß die Oosporen von *Peronospora arborescens* zu deren Überwinterung oder Arterhaltung nicht geeignet sind. Die Frage, wie der Pilz in jedem Frühjahr die Krankheit am Mohn von neuem hervorruft, stand somit noch immer offen. Sie konzentrierte sich aber jetzt nicht mehr auf die Oosporen, sondern von nun an auf das Myzel des Pilzes. Daß sich in Blatt- und Stengelresten neben den Oosporen stets auch Myzelfragmente befinden, steht außer Zweifel; im übrigen sind

diese jederzeit mit Leichtigkeit unter dem Mikroskop zu finden. Es ist jedoch unwahrscheinlich, daß solche Myzelreste sich über Monate hinweg saprophytisch in lebensfähigem Zustand erhalten, sie hätten sonst in den Infektionsversuchen, die mit dem „Oosporenkompost“ durchgeführt worden waren (vgl. S. 323), zu einer Erkrankung der Mohnsämlinge führen müssen. Eine solche trat aber niemals ein. Dafür richtete sich der Verdacht, das Pilzmyzel über Winter zu beherbergen, immer mehr auf den Samen. Auf Schnitten, die durch die Wände noch junger Fruchtknoten stark befallener Mohnpflanzen angefertigt worden waren, fiel nämlich das häufige Vorkommen von *Peronospora*-Myzel auf, das sich sogar bis in die Plazenten der Karpelle hinein erstreckte. Abb. 21 zeigt den Strang einer interzellulär verlaufenden Hyphe, die nach der auf S. 309 geschilderten Methode mittels Anilinblau gefärbt wurde.

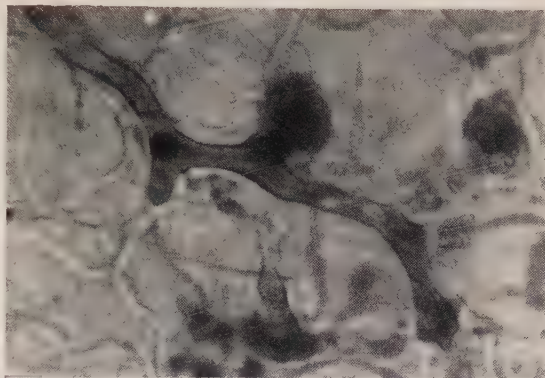


Abb. 21. Hyphe von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. in der Plazenta eines Karpells vom Mohn (gefärbt in Anilinblau). Etwa 450  $\times$

Folgender, zunächst nur orientierender Versuch wurde daher angelegt:

Nachdem im Jahr zuvor aus den Kapseln stark und schwach mehltaukranker Mohnpflanzen genügend Saatgut gesammelt worden war (Herkunft „Aschersleben“), wurde dieses im Frühjahr des nächsten Jahres im Institutsgarten ausgesät. Insgesamt ergaben sich vier Versuchsreihen, wobei

- Parzelle I Saatgut aus gesunden Kapseln,
- Parzelle II Saatgut aus stark kranken Kapseln und
- Parzelle III Saatgut aus schwach erkrankten Kapseln erhielt.

Da „Oosporenkompost“ vorhanden war, wurde Parzelle IV mit diesem bestreut und unverseuchtes Saatgut eingebracht (die Parzellengröße betrug etwa 2 m<sup>2</sup>).

Reichlich vier Wochen später keimte der Samen, auf den Parzellen I und IV gut, auf III schwach und auf II sehr schwach und unregelmäßig. Nach weiteren zehn Tagen konnten auf Parzelle II zwei Pflanzen mit starkem *Peronospora*-Befall gefunden werden.

Der Versuch läßt erneut erkennen, daß sowohl die Oosporen wie auch die in dem „Kompost“ befindlichen Myzelreste (Parzelle IV) nicht geeignet sind, eine Verseuchung des Mohns mit dem Falschen Mehltau herbeizuführen. Andererseits läßt der nur sehr geringe Prozentsatz kranker Pflanzen auf Parzelle II noch keineswegs mit voller Überzeugung auf eine Übertragung der *Peronospora* durch den Samen schließen. Der Grund für ihr so seltenes Auftreten ist darin zu suchen, daß die Samen aus Kapseln sehr stark kranker Mohnpflanzen zum größten Teil „taub“ sind, der verbleibende Rest so sehr geschädigt ist, daß er nur äußerst kümmerliche Pflänzchen ergibt, die sofort



nach dem Keimen eingehen. Das wurde an Hand vieler Untersuchungen, die an kranken Samenkapseln erfolgten, immer wieder festgestellt.

Die folgenden Ausführungen werden zeigen, daß eine Überwinterung von *Peronospora arborescens* nur mit Hilfe des im Samen befindlichen Myzels denkbar ist. Wiederholte Gewächshausversuche, wobei „Schlanstedter“ Mohn aus stark *peronosporakranken* Kapseln ausgesät wurde (Kontrolle: Saatgut aus gesunden Kapseln), führten regelmäßig zu einem hohen Prozentsatz sehr stark befallener Keimlinge mit deutlichen Blattchlorosen und dichten „Luftmyzel“-Belägen auf der Unterseite der Blätter, selbst wenn diese noch sehr klein waren. Das in den Kontrollversuchen verwendete Saatgut aus gesunden Kapseln entwickelte sich ausnahmslos gesund. ALCOCK (1933) vertritt zwar noch die Ansicht, *Peronospora arborescens* überwintere, ebenso wie *P. tabacina* ADAM (DIXON, McLEAN und WOLF, 1935, MILLER und O'BRIEN, 1949), mit Hilfe der Oosporen. Während YOSSIFOVITCH (1929), der eine Oosporenkeimung nur vermutet, eine Übertragung der *Peronospora*-Krankheit durch den Samen bestreitet, vertritt PAPE (1933) die gegenteilige Ansicht. Für ein Überwintern der *Peronosporineen* im Stadium des vegetativen Myzels sind die Belege zahlreicher, so von *Peronospora schleideni* Ung. in der Zwiebel (MURPHY, 1921, YARWOOD, 1943), *P. schachtii* Fock. in Wurzeln von Rüben (PETERS, 1923), *P. brassicae* Gäm. in Kohl-, Rettich- und Senfarten (BREMER, 1953), *P. parasitica* de By., *P. alsinearum* Casp. und *P. holostei* Casp. in mehreren *Cruciferen* bzw. *Caryophyllaceen* (LAUBERT, 1919) und *P. pulveracea* Fock. im Rhizom und in den Knospenanlagen von *Helleborus niger* L. (von ARX und NOORDAM, 1951). LEACH und BORTHWICK (1934) wiesen schließlich das Myzel von *Peronospora spinaciae* Laub. in den Kelchblättern, den Integumenten, dem Funiculus und dem Nucellus der Samenanlagen des Spinates nach.

Nachdem das Resultat eines Vorversuches sowie einiger Gewächshausversuche (vgl. S. 325) mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine Übertragung der *Peronospora arborescens* mit dem Mohnsaatgut schließen ließ, wurde auf einem stark verseuchten Feld der Umgebung von Aschersleben eine größere Anzahl noch in Blüte stehender, kranker Mohnpflanzen gesammelt. Die Stengel waren infolge des Mehltaubefalles stark gekrümmt, und die Petalen hatten sich aus dem gleichen Grunde nicht entfaltet. Während das Innere der Stengel schon Oosporen aufwies, war die Stengeloberfläche von einem schütterten, die der Kelchblätter von einem sehr dichten Myzelrasen bedeckt. Das Gynaeceum und das Androeceum erschienen äußerlich gesund.

Durch die Placenten und die daran haftenden noch jungen Samenanlagen wurden Schnitte hergestellt und mit Anilinblau gefärbt (vgl. S. 309). Zunächst fielen die langen Hyphenstränge auf, die sich zwischen den Integumentzellen der atropen Samenanlagen erstreckten (vgl. Abb. 22). Auf Grund ihres grobkörnigen Inhaltes, besonders aber der großen Haustorien, konnten sie sofort als *Peronospora*-Hyphen identifiziert werden. Bei weiterem Suchen fiel es nicht schwer, den Verlauf der Hyphen, die aus den Placenten kamen und sich durch den Funiculus bis in das Ovulum erstreckten, zu verfolgen. Mit-

unter schien es, als nähmen sie von den Interzellularen der ganzen Samenanlage Besitz (Abbildung 23 a und b).

Mit dem Auffinden des Myzels in den Samenanlagen des Mohns dürfte die Frage nach der Überwinterung von *Peronospora arborescens* beantwortet sein; damit ist auch der Kreislauf, den die Entwicklung des Pilzes im Mohn durchmacht, geschlossen. Nach

allem, was über die Biologie des Pilzes ermittelt werden konnte, ist er ein obligater Parasit. Ein saprophytischer Abschnitt, auch wenn er von noch so kurzer Dauer wäre, kommt nicht vor. Da aber die Oosporen nur dort entstehen, wo die von dem Pilz befallenen Gewebeteile absterben (vgl. S. 315), wäre zu erwägen, ob der Parasit nicht doch zum Ablauf gewisser Prozesse, nämlich der generativen Phase, tote, zumindest absterbende Substanz benötigt. Solange aber die Aufgabe, die die Oosporen im Leben des Pilzes haben, noch nicht erkannt ist und sie zunächst als funktionslose Organe

angesehen werden müssen, bleibt die kurze saprophytische Phase für die Entwicklung des Pilzes ohne Bedeutung. Da *Peronospora arborescens* vom Samenendosperm ihres Wirtes Besitz ergreift, sich in diesem über Winter erhält und auf diese Weise jährlich die Krankheit von neuem hervorruft, liegt, wie in nur wenigen Fällen, die die Phytopathologie kennt, ein cyclischer Parasitismus vor.

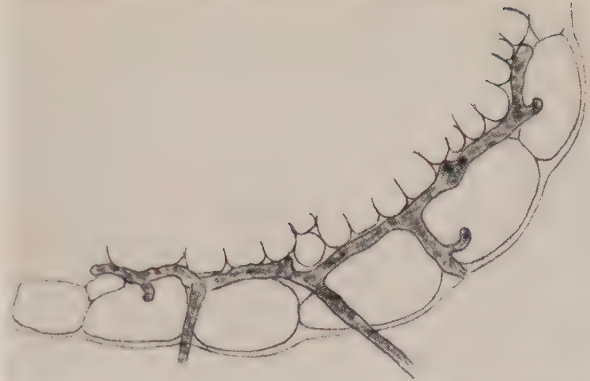


Abb. 22. Myzel von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. zwischen den Integumentzellen der Samenanlage vom Mohn (gefärbt in Anilinblau). Etwa 450×

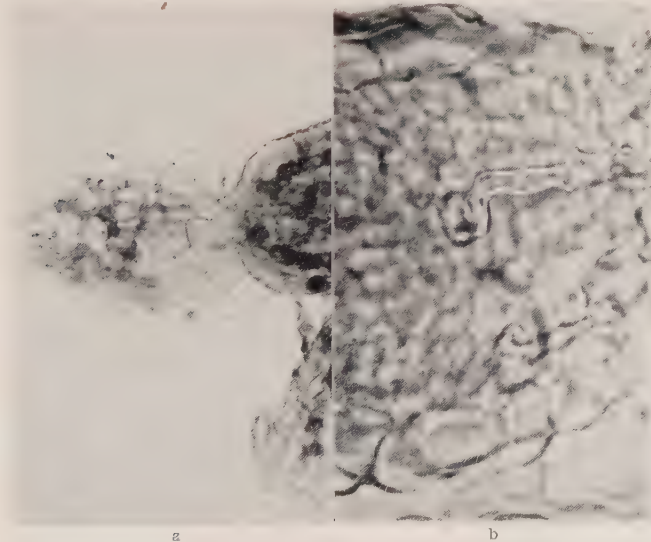


Abb. 23. a) Samenanlage vom Mohn (*Papaver somniferum* L.) mit interzellulär verlaufenden Hyphen von *Peronospora arborescens* (Berk.) de By. (nach Färbung in Anilinblau). Etwa 135 ×. b) Dasselbe, jedoch stärker vergrößert. Etwa 450 ×

Für das Zustandekommen einer *Peronospora*-Epidemie am Mohn ist also ein von dem Parasiten infiziertes Saatgut die wichtigste Voraussetzung. Das erklärt, weshalb in den Freilandversuchen unter den drei zur Verfügung gewesenen Mohnsorten („Schlanstedter“, „Mahndorfer“ und „Klein-Wanzlebener“) immer der an erster Stelle genannte einen so relativ hohen Befall an Falschem Mehltau aufwies (vgl. S. 304). Denn kaum an anderer Stelle in Mitteldeutschland wird alljährlich am Mohn so intensiv und in so großem Umfang gearbeitet wie in Schlanstedt. Wie nicht anders zu erwarten, ist dort die *Peronospora* eine häufige und somit nicht unbekannte Erscheinung. Das Ausmaß des Befalles würde sich aber auch in Schlanstedt in erträglichen Grenzen halten, wenn nicht zwei weitere Voraussetzungen gegeben wären, die häufig der Anlaß eines starken Mehltauauftretens am Mohn sind: die Anreicherung des Bodens an verseuchtem Saatgut (Ausfallkorn), das aus Kapseln kranker Pflanzen stammt, und eine fast während des ganzen Sommers herrschende hohe Luftfeuchtigkeit. Auf die außerordentlich große Bedeutung der letzteren, insbesondere für das Gelingen künstlicher Infektionen, wurde schon hingewiesen (vgl. S. 304). Da aber Schlanstedt infolge eines nördlich vorbeiziehenden Niederungsgebietes ständig hohe Luftfeuchtigkeitswerte aufweist, sind dort die Voraussetzungen für das Zustandekommen von *Peronospora*-Epidemien tatsächlich besonders günstig. Ein Versuch, der anderen Zwecken als einer künstlichen Verseuchung diene, und der gleichzeitig in Stichelsdorf, Aschersleben und Schlanstedt angelegt worden war, führte, obwohl „Schlanstedter“ Mohn verwendet wurde, nur am zuletzt genannten Standort zu einem sehr starken Auftreten der *Peronospora* (vgl. S. 304). In Aschersleben blieben die Pflanzen das ganze Jahr über gesund, und in Stichelsdorf erkrankten nur einige wenige.

In Schlanstedt, wo die Aussaat auf einem schon im Jahr zuvor mit Mohn bestellt gewesenen Acker vorgenommen worden war, zeigte sich erneut, daß die Keimlinge bereits befallen sind, wenn sie gerade die Erdoberfläche durchbrechen. Es konnte früher schon experimentell, und zwar an Hand eines Freiland- und mehrerer Gewächshausversuche (vgl. S. 325) gezeigt werden, wie stark die Keimblätter und die ersten Laubblätter solcher Keimlinge befallen waren, die sich aus Samen mehltaukranker Kapseln entwickelt hatten. Hier wie auch am Schlanstedter Material trugen sie blattunterseits einen dichten Myzelrasen und ließen blattoberseits deutliche Chlorosen erkennen. Der gleiche Befund dürfte davon überzeugen, daß eine Ansteckung der keimenden Mohnpflanze durch *Peronospora*-Konidien nicht in Frage kommt. Ist der Samen völlig steril, so liefert er eine gesunde Nachkommenschaft. Ruht aber das Myzel des Parasiten im Endosperm, so infiziert es den wachsenden Keimling und sorgt dafür, daß von ihm auch alle Entwicklungsstadien der älteren Mohnpflanze erfaßt werden und alle Organe erkranken.

### III. Schlußbetrachtung

Nachdem die Untersuchungen einen Abschluß gefunden hatten, sollte ein Rückblick dazu dienen, die Aufmerksamkeit auf einige wichtige Ergeb-



nisse, die erzielt werden konnten, zu lenken. Es wurde deutlich, daß *Peronospora arborescens* in seinem Lebensgeschehen zwei Wesenszüge aufweist, die für andere pflanzenparasitische Pilze kaum die Regel sein dürften. Bekanntlich bildet der Mehltauerreger auf der Blattunterseite infizierter Mohnpflanzen einen dichten Konidienträgerrasen, an welchem große Mengen von Konidien produziert werden. Die Untersuchungen hatten aber ergeben, daß im Feldbestand eine Übertragung der Krankheit von Pflanze zu Pflanze selten vorkam und nur zur Entstehung wenig auffälliger, nekrotischer, eng umschriebener Blattflecke führte. Da außerdem der Pilz an solchen Stellen nur spärlich fruktifizierte, war diese Art des Krankheitsverlaufes eine nur harmlose und, wenn die Flecke nicht in größerer Zahl auftraten, zur Ausbreitung einer *Peronospora*-Epidemie wenig geeignet. Eine schwere Erkrankung wurde immer nur dann herbeigeführt, wenn die Infektion an jugendlichen Geweben, also am Vegetationskegel der wachsenden Mohnpflanze, erfolgte. Im Feldbestand kann es aber nur einem besonders günstigen Zufall überlassen bleiben, wenn die Infektion ausgerechnet über diese wenig exponierte Stelle verlaufen soll, die durch die sich kuppelartig über den Vegetationskegel wölbenden jungen Blattanlagen vor einem Konidienzuflug gut geschützt ist. Damit aber hätte die überwiegende Menge der in so großer Zahl gebildeten Konidien ihre epidemiologische Bedeutung verloren, so daß die Annahme einer kontinuierlichen, über das Saatgut verlaufenden Infektkette immer mehr an Bedeutung gewinnen mußte.

Im Zusammenhang mit diesen Erörterungen muß auch die auf S. 301 geschilderte Infektionsmethode erwähnt werden. Ohne Zweifel erkrankten die Mohnpflanzen am stärksten, wenn das Infektionsmaterial mit embryonalen Geweben der Wirtspflanze in Berührung gebracht wurde. Da aber, wie erwähnt, der Vegetationskegel von zahlreichen noch nicht entfalteten Blättchen umhüllt ist, fragt es sich, ob bei der Infektion trotz sorgfältigen Auseinanderpräparierens der Blättchen wirklich der Vegetationskegel freigelegt und mit den *Peronospora*-Konidien belegt wurde. Sollte dies tatsächlich gelungen sein, bestand dann nicht andererseits die Gefahr, daß durch das rasche Weiterwachsen der Vegetationsspitze diese dem Pilz entwuchs und somit der Infektion entging? HARTWICH (1955) wies bei seinen Untersuchungen über *Uromyces pisi* (DC.) Otth mit Nachdruck auf diese Möglichkeit hin. Leider reichten unsere derzeitigen Kenntnisse nicht aus, um darüber zu entscheiden, ob das Pilzmyzel von *Peronospora arborescens* rascher wuchs als das von *Uromyces pisi*. Fast mußte das angenommen werden, wie wäre es sonst dem Mehltauerreger möglich, ohne eine hohe Ausbreitungsgeschwindigkeit eine Totalinfektion der Mohnspresse herbeizuführen? Somit bleibt nur noch die eine Frage offen: verläuft die Infektion an der jungen Mohnpflanze wirklich über deren Vegetationskegel? Die Untersuchungen hatten auf diese Frage keine absolut sichere Auskunft gegeben. Sie ließen aber immer wieder erkennen, daß die Infektion, sollte sie zu einer schweren Erkrankung der Sämlinge führen, ausschließlich an noch embryonalen Geweben erfolgen mußte. Dazu schienen sich der Vegetationskegel und die dort gedrängt stehenden, noch nicht entfalteten Blattanlagen besonders gut zu eignen.

Konnte doch immer wieder die Erfahrung gemacht werden, daß bereits ausdifferenzierte Gewebe, nämlich die vollentwickelten Laubblätter, einer Infektion nur schwer zugänglich waren bzw. einen nur leichten Krankheitsverlauf zuließen.

Die zweite Eigentümlichkeit, durch die sich *Peronospora arborescens* von anderen bisher untersuchten *Peronosporaceen* auszeichnet, ist die scheinbar bedeutungslose Rolle, welche die Oosporen für die Arterhaltung des Parasiten spielen. Alle Bemühungen, sie zur Preisgabe ihrer Latenzphase und somit zum Auskeimen zu veranlassen, schlugen fehl. Es soll damit nicht gesagt sein, daß die Oosporen der *Peronospora arborescens* niemals keimen, also funktionslose Relikte darstellen, die nur aus Gründen der Phylogenie zur Entwicklung gelangten. Zu einem solchen Schluß reichten die angestellten Versuche zur künstlichen Auslösung der Keimung noch nicht aus. Vor allem wurde einem für die Oosporenkeimung eventuell erforderlichen Sauerstoffbedürfnis noch gar nicht Rechnung getragen, zum anderen fand das während der Keimversuche so häufige spontane Auftreten von Fremdorganismen zu wenig Beachtung. Die Möglichkeit, daß in Gemeinschaft mit dem Pilz wachsende Mikroorganismen sich nachteilig auf die Keimbereitschaft seiner Oosporen auswirken, ist nicht von der Hand zu weisen. Sollten auch weitere, ausgedehntere Untersuchungen, die sich mit der Frage der Oosporenkeimung von *Peronospora arborescens* befassen, zu negativen Ergebnissen führen, so ist nicht vorstellbar, weshalb der Pilz mit dem allmählichen Absterben seines Wirtes die Oosporen in so großen Mengen bildet. Es wären dann nicht nur die Konidien des Pilzes, die ihre Aufgabe der Propagation eingebüßt hätten, sondern auch dessen Dauersporen, die ihrem eigentlichen Zweck, nämlich der Arterhaltung, nicht mehr dienen würden.

### Zusammenfassung

In den Nachkriegsjahren nahm der Mohnanbau an Umfang zu. Die Folge davon ist eine immer stärkere Ausbreitung der Mohnschädlinge und -krankheiten. In Gebieten intensiven Mohnbaues macht sich u. a. der Falsche Mehltau, hervorgerufen durch *Peronospora arborescens* (Berk.) de By., unangenehm bemerkbar. Vorliegende Arbeit diene dem Zweck, über die Feststellungen von YOSSIFOVITCH hinaus weitere Untersuchungen über die Biologie des Mehltauerregers, den Krankheitsverlauf, das Krankheitsbild und die Reaktion der Pflanze auf den Befall anzustellen. Der Frage nach der Art und Weise der Überwinterung des Parasiten wurde besonderes Interesse gewidmet.

1. *Peronospora arborescens* kommt überall dort vor, wo der Mohn zur Öl- und Opiumgewinnung angebaut wird. Sie ist besonders in den Ländern Ost- und Südosteuropas verbreitet, auch in Mitteleuropa ist die Krankheit während der letzten zehn Jahre häufiger geworden.

2. In eigenen Infektionsversuchen, wobei eine besondere Infektionsmethode ausgearbeitet wurde, ließ sich der Falsche Mehltau nur auf *Papaver somniferum* L. und *P. setigerum* DC. übertragen, im Freien konnte er an

*P. causicum* Marsch.-Bieb. festgestellt werden, von anderen Autoren an weiteren *Papaver*-Arten sowie verschiedenen Gattungen der *Papaveraceen*.

3. Mehltaukranker Mohn ist äußerlich an zumeist klein bleibenden, nicht schossenden Pflanzen mit verkrüppelten und oberseits vergilbten Blättern zu erkennen, die auf der Unterseite einen dichten, blaßvioletten Rasen aus Sporangienträgern entwickeln. Selten gelangen stärker befallene Pflanzen zur Blüte und Kapsel- bzw. Samenreife, dann wächst der Blüten- bzw. Kapselstengel nicht gerade-aufrecht, sondern ist stark gekrümmt. Ein an bereits ausdifferenzierten Blättern auftretendes Befallssymptom besteht in kleinen, nekrotischen Flecken, die unterseits ein nur sehr spärlich fruktifizierendes „Luftmyzel“ erkennen lassen.

4. Der mittlere Längen- und Breitendurchmesser der Konidien von *Peronospora arborescens* beträgt 22,8 bzw. 19,0  $\mu$ . Auffallend klein und rund waren die Konidien der Herkunft „Schlanstedt“, abnorm große Längen- und Breitenwerte ergab die Herkunft „Bald Sulza“ (Thüringen). Innerhalb von elf *Peronospora*-Herkünften konnten vier Größenklassen aufgestellt werden, deren jede einer Gruppe geographisch zusammengehöriger Fundorte entsprach. Mit dem Vorkommen von Lokalrassen des Mehltauerregers in Mitteldeutschland muß gerechnet werden.

5. Die Konidien von *Peronospora arborescens* keimen in Wasser. Bei einer Häufigkeit von 31,6 % betrug das Temperaturoptimum 19 °C. Bei + 2 °C trat die Keimung verzögert ein, auch war sie weniger häufig. Es gelang nicht, die Keimungsintensität durch Abändern der Versuchsmethodik zu erhöhen. Die Keimfähigkeit blieb bis zu elf Tagen erhalten, wenn die Konidien nicht von den Blättern entfernt und diese bei + 2 °C aufbewahrt worden waren.

6. Die Infektion verläuft zwischen 12 und 17 °C optimal; wichtiger ist für das Zustandekommen der Infektion eine hohe Luftfeuchtigkeit. Zur Zeit der Samenkeimung herrschendes kühles und regnerisches Wetter führt zur heftigsten Erkrankung des Mohns.

7. Die *Peronospora*-Keimhyphae benötigt zum Eindringen in das Wirtsinnere nicht die Stomata, sie umgeht diese, da sie die Kutikula und Epidermisaußenwand perforieren kann.

8. Das Myzel von *Peronospora arborescens* wurde im gesamten Stengelgewebe und in demjenigen der Hauptwurzel nachgewiesen. Vom Stengel aus wächst es in die Blätter hinein und breitet sich dort, von der Mittelrippe kommend, über die Intercostalfelder aus. Die Hyphen wachsen interzellulär, aber niemals zwischen den Zellen der oberen oder unteren Epidermis. Die in die Zellen eindringenden Haustorien sind sehr groß, häufig gekrümmt oder auch verzweigt.

9. Vom Falschen Mehltau befallene Mohnblätter sind dicker als gesunde. Die Ursache ist eine erhebliche Dickenzunahme des Trichter- und Schwammparenchyms. Der feste Zellverband dieser Gewebe ist durch die sie regellos durchziehenden Pilzhyphe stark aufgelockert und zerstört. Der Blatthypertrophie läuft ein nicht unbeträchtlicher Schwund des Chlorenchyms, der mit



einer mikroskopisch erkennbaren Chloroplastendegeneration verbunden ist, parallel. Messungen, die an alkoholischen Chlorophyllextrakten kranker und gesunder Blätter angestellt wurden, ergaben eine etwa sechsmal größere Lichtdurchlässigkeit der ersteren. Wahrscheinlich werden die Karotinoide durch den Parasiten stärker in Mitleidenschaft gezogen als die beiden Chlorophylle.

10. *Peronospora arborescens* bildet in allen oberirdischen, unter dem Einfluß des Pilzes absterbenden Organen Oosporen. Sie entwickeln sich nicht parthenogenetisch und entstehen in sehr großer Zahl an einem homothallischen Myzel.

11. In keinem der zahlreichen Versuche, die Oosporen zum Keimen zu veranlassen, kam es zu deren Weiterentwicklung. Die Oosporen können daher nicht für eine Erhaltung des Parasiten über die vegetationslose Zeit hinweg verantwortlich gemacht werden.

12. Der Nachweis des *Peronospora*-Myzels in den Ovulis der Mohnfrüchte sowie das regelmäßige und auch experimentell herbeigeführte Auftreten des Mehltaus in solchen Beständen, die sich aus Samen befallener Kapseln entwickelt hatten, beweist, daß die alljährliche Verseuchung der Mohnfelder vom Samen ausgeht. Die Art des Zusammenlebens von Pilz und Wirtspflanze ist somit, da jener im Samenendosperm perenniert, als ein cyclischer Parasitismus zu bezeichnen.

#### Literaturverzeichnis

1. Anonym, 1950: Plant diseases. Agric. gaz. New South Wales 61, 465—467.
- \*2. ALCOCK, N. L., 1933: Downy mildew of *Meconopsis*. New flora and silva. 5, 279 bis 282.
3. ARENS, K., 1929: Untersuchungen über Keimung und Zytologie der Oosporen von *Plasmopara viticola* (Berl. et de Toni). Jb. wiss. Bot. 70, 57—92.
4. ARX, J. A. v. und NOORDAM, D., 1951: Valse meeldauw (*Peronospora pulveracea* Fuckel) op *Helleborus niger*. T. plantenziekt. 57, 32—34.
5. DE BARY, A., 1863: Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. Ann. des sci. nat.; partie botanique. 4. série, 20, Paris.
6. — —, 1881 a: Untersuchungen über die Peronosporaceen und Saprolegnien und die Grundlagen eines natürlichen Systems der Pilze. Abhdlg. Senckenberg. naturforsch. Ges. 12, 225—370.
7. — —, 1881 b: Zur Kenntnis der Peronosporaceen. Bot. Ztg. 39, 521—530, 537—544, 553—563, 569—578, 585—595, 601—609 und 617—626.
8. BEAUMONT, A., 1953: Diseases of poppies. Gardener's chron., ser. 3, 134, 71.
- 8a. BECKER, H., 1928: Untersuchungen über die Lebensfähigkeit von Uredosporen von *Puccinia glumarum*. Kühn-Archiv 19, 353—411.
9. BEHR, L., 1955: Eine neue Methode der Plasmafärbung von Pilzsporen mit Haematoxylin. Zbl. Bakt. II 108, 641—656.
10. BOGUSLAWSKI, E. v., 1953: Ölfruchtbau. In: ROEMER, TH., SCHEIBE, A., SCHMIDT, J. und WOERMANN, E., Handb. d. Landwirtschaft, 2. Aufl., 2. Paul Parey, Berlin und Hamburg, S. 352—355.
11. BONTEA, V., 1953: Ciuperci parazite și saprofite din republica populară română. Academici republicii populare Române.
12. BREMER, H., 1953: Der Falsche Mehltau des Kohls (*Peronospora brassicae* Gäumann). Sammelbericht. Z. Pflanzenkrankh. 60, 126—127.
13. BRUIJN, H. L. G. DE, 1935: Heterothallism in *Peronospora parasitica*. Phytopathology 25, 8.

14. BUDDENHAGEN, J. W. and ROY, A. J., 1954: A leaf and twig blight of English holly caused by a species of *Phytophthora*. *Phytopathology* 44, 483.
- \*15. DA CAMARA, E. DE S., DE OLIVEIRA, A. L. B. und DA LUZ, C. G., 1936: *Mycetes aliquot Lusitaniae*. I. In laboratório Pathologiae vegetalis instituti agronomici Olisipponis observata. *Rev. agron., Lisboa* 24.
- \*16. CHRISTOFF, A., 1943: Fungi causing spots on the balls, and moulding the seed of opium poppy. *J. agric. exp. stat., Bulgaria* 13, 13—19 (bulgarisch).
17. CORNFORD, C. E., 1954: Effect of downy mildew on yield of sugar beet. *Plant path.* 3, 82—83.
- \*18. COTTON, A. D., 1929: A fungus disease of *Meconopsis*. *Gardener's chron.* 85, 143 bis 144.
19. DARFOUX, H., 1945: Contribution a l'étude des maladies des plantes oléagineuses en France. *Ann. épiphyt. n. s.* 11, 71—103.
- 19a. DAVIS, W. H., 1923: Spore germination of *Ustilago striaeformis*. *Phytopathology* 14, 251—267.
20. DIXON, L. F., McLEAN, R. A. and WOLF, F. A., 1935: The initiation of downy mildew of tobacco in North Carolina in 1934. *Phytopathology* 25, 628—639.
- \*21. DRECHSLER, CH., 1952: Production of zoospores from germinating oospores of *Pythium ultimum* and *Pythium debaryanum*. *Bull. Torrey bot. club* 79, 431—450.
22. GÄUMANN, E., 1923: Beiträge zu einer Monographie der Gattung *Peronospora*. *Beitr. Kryptogamenflora d. Schweiz* 5, Heft 4.
23. GAVEL, L. v., 1951: Zum Problem der aktivierenden Wirkung sublethaler Hitze auf Bakteriensporen. *Arch. Mikrobiol.* 16, 28—39.
24. GRÜMMER, G., 1951: Beiträge zur Eigenschaftsanalyse der Anfälligkeit von *Papaver somniferum* gegen *Helminthosporium papaveris*. 1. Mittlg. *Züchter* 21, 306—322.
25. — —, 1952 a: 2. Mittlg. *Nachrl. Dtsch. Pflanzenschd. (Berlin)* N. F. 6, 32—36.
26. — —, 1952 b: 3. Mittlg. *Züchter* 22, 366—373.
27. HAHNE, J., 1925: Untersuchungen über die Keimungsbedingungen von *Tilletia*-Sporen. *Kühn-Archiv* 9, 157—263.
28. HARTWICH, W., 1955: Untersuchungen über die Entwicklung des *Uromyces pisi* (DC.) Otth auf *Euphorbia cyparissias* L. *Phytopath. Z.* 24, 73—96.
29. HENDERSON, R. G., 1937: Histological studies of infection and sporulation of *Peronospora tabacina* in tobacco seedlings. *Phytopathology* 27, 131.
30. HEROLD, F., 1952: Untersuchungen zur Rettichschwärze und zur Biologie ihres Erregers *Aphanomyces raphani* Kendr. im Vergleich mit weiteren *Aphanomyces*-Arten. *Phytopath. Z.* 19, 79—125.
31. HOLTON, C. S., 1943: Chlamydospore germination in the fungus causing dwarf bunt of wheat. *Phytopathology* 33, 732—735.
32. HOLZ, W., 1936: Zur Färbung des Myzels von *Fusicladium dendriticum* in Apfelblättern. *Zbl. Bakt. II.* 94, 195.
33. HYRE, R. A., 1952: Wind dissemination of *Peronospora tabacina*. *Plant dis. reptr.* 36, 335.
- \*34. IKATA, S. and YAMAUTI, K., 1941: Notes on the haustoria of some species of *Peronospora*. *Ann. phytopath. soc. Japan* 10, 326—328.
35. JANKE, A., 1946: Arbeitsmethoden der Mikrobiologie. 1. Allgemeine mikrobiologische Methoden. 126—128.
36. JOHNSON, E. M. and VALLEAU, W. D., 1954: Heterothallism in *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. *Phytopathology* 44, 312—313.
37. LAUBERT, R., 1919: Zur Frage der Übertragbarkeit der *Peronosporaceen* (Falscher Mehltau) mittels der Samen der Wirtspflanze. *Gartenflora* 68, 175—176.
38. LEACH, L. D. and BORTHWICK, H. A., 1934: Distribution of downy mildew mycelium in spinach fruits. *Phytopathology* 24, 1021—1025.
- \*39. LINDQUIST, J. C., 1939: *Especies argentinas del género „Peronospora“*. *Physis (B. Aires)* 15, 13—20.
40. LUCAS, G. B. and PERSON, L. H., 1954: Factors influencing oospore germination in *Peronospora tabacina*. *Phytopathology* 44, 332.

- \*41. MCKAY, R., 1937: Germination of oospores of onion mildew, *Peronospora schleideniana* W. G. Sm. Nature **139**, 758—759.
42. MEFFERT, M.-E., 1950: Ein Beitrag zur Biologie und Morphologie der Erreger der parasitären Blattdürre des Mohns. Z. Parasitenkde. **14**, 442—498.
43. METZGER, I., 1942: Versuche zur Aufbewahrung lebender Sporen von Weizen- und Gerstenmehltau. Kühn-Archiv **56**, 163—172.
- \*44. MILLER, P. R. and O'BRIEN, M., 1949: January temperatures in relation to the distribution and severity of downy mildew of tobacco. II. A review of the past nineteen years. Plant dis. reprints **33**, 418—425.
- \*45. MOESZ, G., 1938: Fungi Hungariae. II. *Archimycetes* et *Phycomycetes*. Ann. hist.-nat. mus. hung. **31**, 58—109.
- \*46. MURPHY, P. A., 1921: The presence of perennial mycelium in *Peronospora Schleideni* Unger. Nature **108**, 304.
47. NOBLE, R. J., 1923: Studies on *Urocystis tritici* Koern., the organism causing flag smut of wheat. Phytopathology **13**, 127—139.
48. NOLTE, H.-W., 1952: Alte und neue Mohnschädlinge. Die Deutsche Landwirtschaft **3**, 379—382.
49. PAPE, H., 1933: Falscher Mehltau am Mohn. Gartenwelt **37**, 289—290.
50. PERSON, L. H. and LUCAS, G. B., 1953: Oospore germination in *Peronospora tabacina*. Phytopathology **43**, 701—702.
51. PETERS, L., 1923: Die Kräuselkrankheit der Rüben. Dtsch. landw. Presse **50**, 117.
- \*52. PETRAK, F. und ESFANDIARI, E., 1941: Beiträge zur Kenntnis der iranischen Pilzflora. Ann. mycol. **39**, 204—228.
- \*53. POETEREN, N. VAN, 1923: Verslag over de werkzaamheden van den plantenziektenkundigen dienst in het jaar 1922. Versl. en meded. plantenziektenkund. dienst te Wageningen **31**.
54. PROCHASKA, M., 1928: Beobachtungen über das Auftreten von *Peronospora arborescens* (Falscher Meltau) auf *Papaver somniferum*. Fortschr. d. Landwirtsch. **3**, 165—167.
- \*55. PROSHKINA-KOBEZSKAYA, A. I.: Diseases of cultivated plants in the Ukraine 1926 bis 1927. Protection of plants in Ukraine 1927—1928, H. 3—4, 25—32 (russ.).
56. REINMUTH, E., 1942: Die parasitäre Blattdürre, eine für den Mohnbau bemerkenswerte Krankheit. Angew. Bot. **24**, 273—277.
57. — —, 1943: Weitere Beobachtungen über die parasitäre Blattdürre des Ölmohns. Angew. Bot. **25**, 300—302.
58. SAFEEULLA, K. M. and THIRUMALACHAR, M. J., 1955: Resistance to infection by *Sclerospora sorghi* of Sorghum and maize varieties in Mysore, India. Phytopathology **45**, 128—131.
- \*59. ŠKORIČ, V., 1930: Bolesti bilja ne fakultetskom dobru „Maksimir“. Rep. ann. univ. de Zagreb 1929, 738—746.
60. STOLL, K., 1949: Ein Beitrag zur Kenntnis der Chlamydosporenkeimung von *Ascochyta pinodella* Jones. Nachrbl. Dtsch. Pflanzenschd. (Berlin) N. F. **3**, 96—100.
61. TAKESHITA, R. M. and LINN, M. B., 1953: Possible means of overwintering of the horse-radish white-rust fungus, *Albugo candida*. Phytopathology **43**, 485.
- \*62. THIND, K. S., 1942: The genus *Peronospora* in the Punjab. J. Indian bot. soc. **21**, 197—215.
63. VIENNOT-BOURGIN, G., 1949: Les champignons parasites des plantes cultivées. **1**, Paris.
64. WEMMER, L., 1954: Über die Ruheperiode der Zygosporen von *Saprolegnia*. Arch. Mikrobiol. **21**, 217—229.
65. YARWOOD, C. E., 1943: Onion downy mildew. Hilgardia **14**, 595—691.
- \*66. YOSSIFOVITCH, M., 1928: A destructive disease of the poppy in southern Serbia. Intern. bull. plant protect. **2**, 18—19.
67. — —, 1929: *Peronospora arborescens* (Berk.) de By., parasite très important de *Papaver somniferum* en Yougoslavie. Rev. pathol. végét. et d'entomol. agric. **16**, 235—270.

Die mit \* bezeichneten Arbeiten waren mir nur im Referat zugänglich.



## **Die phytopathologische Bedeutung der kutikulären Exkretion<sup>1)</sup>**

Von

A. KOVÁCS und É. SZEÖKE

*Mit 4 Abbildungen*

**Inhalt:** I. Einleitung. — II. Material und Methoden. — III. Untersuchungen und Ergebnisse. A. Wirkung von Blattekreten auf die Keimung von Pilzsporen. 1. Art der Beeinflussung. 2. Vergleich der Blattekrete verschiedener Pflanzen. 3. Empfindlichkeit verschiedener Testorganismen. B. Über die Natur der wirksamen Stoffe. 1. Die anorganischen Substanzen. 2. Die Wasserstoffionenkonzentration. 3. Die leicht oxydierbaren organischen Substanzen. C. Über den zeitlichen Verlauf der Exkretion. — IV. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

### **I. Einleitung**

SAUSSURE stellte als erster im Jahre 1804 fest, daß der Regen verschiedene Stoffe aus Pflanzenblättern löst. Mit der Auswaschung anorganischer Stoffe beschäftigten sich später unter anderem PFEIFFER, RIPPEN und PFOTENHAUER (1921), ARENS (1929, 1934), LAUSBERG (1935), EPERJESSY (1941) und EPERJESSY (1944). ARENS (1929) berichtete außerdem über die Ausscheidung von organischen Substanzen durch die Blätter. Die erwähnten Forscher, mit Ausnahme von ARENS (1929), haben das Problem von der Seite des Stoffwechsels her behandelt. Dabei ist die phytopathologische Bedeutung der kutikulären Exkretion verhältnismäßig wenig beachtet worden. Aber gerade bei der Keimung eines Parasiten — in der ersten Phase der Infektion — kann von ausschlaggebender Bedeutung sein, welche Stoffe sich im Infektionstropfen befinden.

Als erster behandelte BROWN (1922) diese Frage. Aus der Pflanze in den Infektionstropfen gelangende Stoffe sollen die Keimung der Sporen regulieren können. Der Autor tropfte destilliertes Wasser auf die Blütenblätter

1) Für diese Arbeit ist es ohne Bedeutung, ob der nach ARENS (1934) in der Literatur allgemein gebrauchte Ausdruck „kutikuläre Exkretion“ im Sinne von „aktiver Ausscheidung“ oder von „Exosmose“ verstanden wird.

verschiedener Pflanzen, untersuchte darin elektrolytische Leitfähigkeit und Keimung der Konidien von *Botrytis cinerea* und fand: je länger der Infektionstropfen das Blütenblatt berührt, desto mehr nimmt die elektrolytische Leitfähigkeit zu und desto schneller keimen die Konidien. Diese Versuche sind klassisch geworden.

In derselben Arbeit teilt BROWN auch die Ergebnisse einer weiteren, informativen Untersuchung mit. In Tropfen von destilliertem Wasser auf Blättern von *Rhoeo discolor* (l'Hérit.) Hance war die elektrolytische Leitfähigkeit groß, doch die Sporen keimten langsam. Mit diesem Befund scheinen die Ergebnisse eigener Versuche (KOVÁCS, 1955) übereinzustimmen; sie widersprechen aber den Schlußfolgerungen BROWNS aus seinen mit Blütenblättern durchgeführten Untersuchungen. Wegen der größeren praktischen Bedeutung wählten wir für die hier darzustellenden Versuche Laubblätter, obwohl — wie schon BROWN erwähnt — Verunreinigungen dabei mehr stören können.

SUCHORUKOW (1952) machte eine nach unserer Meinung richtige Feststellung: der Parasit wird in der ersten Infektionsphase nicht immer günstig beeinflusst. Dafür könnten sowohl Antibiotica — die außer den Nährstoffen in den Infektionstropfen gelangen — als auch die (im optimalen Bereich günstig, bei höherer Konzentration aber schädlich wirkenden) Nährstoffe selbst verantwortlich sein.

SUCHORUKOW, KLING und OWTSCHAROW (1938) fanden, daß aus Blättern der gegen *Xanthomonas malvacearum* (Erw. Smith) Dowson resistenten Baumwollsorten weniger leicht oxydierbare organische Stoffe gelöst werden als unter gleichen Bedingungen aus Blättern anfälliger Sorten. Auch diese Tatsache weist auf die Bedeutung der Exkretion bei der Infektion hin.

Im Anschluß an die besprochenen Befunde versuchen wir, folgende Fragen zu beantworten:

1. In welchem Sinne wird die Keimung verschiedenartiger Sporen durch die aus den Blättern in die Infektionstropfen (Regen, Tau, dest. Wasser) gelangenden Stoffe beeinflusst?
2. Welches sind die wirksamen Stoffe?
3. Mit welcher Geschwindigkeit werden diese Stoffe von den Blättern ausgeschieden?

## II. Material und Methoden

Um die Wirkung von Exkreten verschiedener Blätter prüfen zu können, wurden Waschwässer hergestellt und in ihnen verschiedene Pilzsporen zum Keimen gebracht. Jeder Versuch wurde in vier Parallelen durchgeführt. Die Ergebnisse beurteilten wir mit Hilfe der Varianzanalyse von FISCHER (MUDRA, 1952). Davon sind einige Messungen ausgenommen, bei denen nicht der Nachweis der Differenz zwischen den Varianten, sondern die Bestimmung der Verlässlichkeit des Mittelwertes (der Streuung) wichtiger erschien.

Das Blattmaterial für die Untersuchungen stammte von Pflanzen aus verschiedenen Familien. Wir benutzten:

- |  |                                   |
|--|-----------------------------------|
| 1. Winterweizen<br>(Sorte Beta-Bánkuter) | unmittelbar vor dem Ährenschieben |
| 2. Rotklee (Landsorte)                   | aus einem Bestand im 2. Jahr      |
| 3. Pappel                                | etwa 15 Jahre alter Baum          |
| 4. Flieder                               | ungefähr sechsjähriger Busch      |
| 5. Paprika (Sorte Fertöder)              | Pflanzen kurz vor der Blüte       |
| 6. Tomate (Sorte Resista)                | kurz vor der Blüte                |
| 7. Zuckerrübe (Sorte Beta K-91)          | jede Pflanze trug 8 Blätter.      |

1—4 im Freiland gesammelt,

5—7 im Gewächshaus gezogen.

Wir bedienten uns dreier Testorganismen.

1. *Botrytis cinerea* Pers., ein fakultativer Parasit mit vielen Wirtspflanzen, wurde für die meisten Versuche benutzt. Der Pilz stammte von Leinkapseln und war aus Einzelsporen kultiviert worden. Er wuchs gut auf bei ein atü sterilisierten Zuckerrübenblattstielen und sporulierte nach zwölf Tagen reichlich. Danach wurden die Kulturen im Kühlschrank bei  $+4^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt. Im Vorversuch reagierten die Sporen empfindlich gegen die aus den Blättern gelösten Substanzen. Die Keimung erfolgte aus unbekannten Gründen nicht gleichmäßig. Beispielsweise betrug der Anteil der in destilliertem Wasser binnen vier Stunden gekeimten Sporen an einem Tage 40 %, am nächsten Tage unter sonst gleichen Bedingungen aber 60—70 %. Weil die Werte innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen auf Grund der jeweils angestellten Kontrollen gut miteinander vergleichbar waren, konnte dieser Umstand unsere Resultate nicht wesentlich beeinflussen.

2. *Ascochyta pisi* Lib. ist ein spezialisierter, aber auf Nährböden gut kultivierbarer Parasit. Die Ausgangskultur erhielten wir von Herrn Assistenten J. LEHOCZKY (Phytopathologisches Institut der Hochschule für Gartenbau in Budapest)<sup>1)</sup>. Der Pilz wurde auf Czapek-Dox-Nährboden vermehrt. Die zwölf Tage alten Kulturen bewahrten wir wie die von *Botrytis cinerea* auf. Die vom Pilz reichlich produzierten Konidien sind zwar qualitativ einheitlich, reagieren jedoch auf die aus den Blättern gelösten Substanzen nicht sehr empfindlich.

3. Uredosporen von *Puccinia triticina* Erikss. erhielten wir von Frau É. BÓCSA (Landwirtschaftliche Versuchsanstalt für Nordostungarn in Kompol)<sup>1)</sup>. Das Material — Biotyp Nr. 8 — stammte von einer Einsporkultur. Die Sporen wurden während der Untersuchungsperiode im Kühlschrank aufbewahrt. Ihre Keimfähigkeit hat sich während dieser Zeit nicht vermindert.

In einem Vorversuch besprühten wir Laubblätter, saugten die Flüssigkeit ab und prüften diese. Für die später durchgeführten Versuche sollten

<sup>1)</sup> Frau BÓCSA und Herrn LEHOCZKY danken wir auch an dieser Stelle.



aber die Konzentrationsverhältnisse in der Weise besser definiert werden, daß die von einer bestimmten Blattfläche ausgeschiedenen Stoffe in einem bestimmten Volumen destillierten Wassers gelöst wurden.

Zunächst war festzustellen, wieviel etwa gleich große Blätter jeder Pflanzenart der gewünschten Fläche (je Probe etwa 500 cm<sup>2</sup>, einfach gemessen) entsprechen. Die Werte sind nach dem Auswaschen durch Abzeichnen der Blattumrisse auf Millimeterpapier ermittelt und in Tabelle 1 zusammengestellt worden. Diese Tabelle gibt auch Aufschluß über die Gewichte der Blätter im frischen und bei 105 °C getrockneten Zustande.

Tabelle 1

Anzahl, Oberfläche und Gewichte ausgewaschener Blätter

	Anzahl Stück	Oberfläche cm <sup>2</sup>	Frischgewicht g	Trockengewicht g
Weizen .....	20,0 ± 0,0	512,0 ± 0,2	7,6 ± 0,1	2,1 ± 0,1
Rotklee .....	51,5 ± 1,6	524,5 ± 9,2	7,2 ± 0,3	1,8 ± 0,1
Pappel.....	24,3 ± 1,3	508,7 ± 8,9	9,0 ± 0,4	2,8 ± 0,1
Flieder .....	14,3 ± 2,1	511,7 ± 6,1	9,2 ± 0,6	2,9 ± 0,4
Paprika.....	16,7 ± 0,4	530,6 ± 11,4	10,7 ± 0,8	1,6 ± 0,1
Tomate.....	15,0 ± 0,4	523,7 ± 16,2	14,0 ± 0,6	1,4 ± 0,1
Zuckerrübe.....	25,0 ± 0,4	516,7 ± 3,4	10,5 ± 0,3	1,0 ± 0,1

Zur Herstellung der Waschwässer wurden die Blätter zwei Stunden lang in destilliertem Wasser in einem Gefäß aus Jenaer Glas eingeweicht, dabei aber die Blattstiele nicht benetzt. Danach wurde die Blattfläche für jede Probe genau festgestellt. Die so geschaffenen Konzentrationsverhältnisse (etwa 1000 cm<sup>2</sup> Blattfläche [Ober- und Unterseite] auf 100 ml) entsprechen vermutlich nicht den natürlichen, denn ein so dicker Flüssigkeitsfilm (1 mm) würde abfließen bzw. zum Teil eintrocknen. Wir dampften je Probe 5 ml Waschwasser im Vakuumexsikkator zur Trockne ein und nahmen den Rückstand in 0,5 ml destilliertem Wasser auf. Die Konzentration entsprach nun der, die in einer 0,1 mm dicken, auf der ganzen Oberfläche gleichmäßig verteilten Schicht zu finden wäre. Durch Verdünnen mit destilliertem Wasser stellten wir Reihen abnehmender Konzentration her.

In diesen Lösungen prüften wir die Sporenkeimung. Von jeder Probe setzten wir zwei Tropfen Testlösung auf einen Objektträger und mischten jedem Tropfen eine Öse voll dichter Sporensuspension bei. Dabei beachteten wir, daß die Sporen innerhalb der Flüssigkeit und auf die beiden Tropfen gleichmäßig verteilt waren. Die Bebrütung geschah in der feuchten Kammer bei 23 °C. Das benutzte Filterpapier wurde bei jedem Versuch erneuert, da sich darauf eine Mikroflora entwickeln und die Keimung beeinflussen könnte (vgl. BROWN).

Zur Kontrolle ließen wir Sporen auch in destilliertem Wasser keimen. Sobald wir einen bestimmten Prozentsatz gekeimter Sporen feststellten, gaben wir Formalin zu Kontrolle und zugehörigen Versuchen, um eine weitere Keimung zu unterbinden. Die bis dahin notwendige Zeit schwankte

je nach Art des Testpilzes zwischen zwei und vier Stunden. Die Auswertung mag nicht in jedem Falle zum günstigsten Zeitpunkt erfolgt sein; denn die Kontrollen konnten vor dem Abtöten nur oberflächlich geprüft werden, um ein Eintrocknen der Flüssigkeiten und andere Störungen beim Keimen zu vermeiden.

In jedem Tropfen wurde in zufällig gewählten Blickfeldern festgestellt, wie viele von 50 Konidien gekeimt waren. Die Zahlen stimmten dabei für die beiden Tropfen einer Probe gut überein; ihre Summe gibt direkt Prozente an.

Die elektrolytische Leitfähigkeit wurde mit einem konduktometrischen Aschenbestimmer (Bauart „Freye“) gemessen. Zu der WHEATSTONESchen Brücke des Apparates fertigten wir Mikroelektroden an und überzogen deren Oberfläche mit Platinmoor. Dadurch wird die Polarisationskapazität vermindert und die Meßgenauigkeit erhöht. Das Gerät in seiner ursprünglichen Ausführung wird für Untersuchungen in Zuckerfabriken benutzt. Der direkt ablesbare Aschengehalt in Prozenten gilt allerdings nur für solche Lösungen, wie sie bei der Aufarbeitung von Zuckerrüben erhalten werden. Deshalb geben wir in unseren Tabellen die Werte für die spezifische Leitfähigkeit an. Zu jedem Versuch wurden Kontrollmessungen in destilliertem Wasser vorgenommen.

Wir wollten noch beurteilen, ob der Staub, der auf die Blätter gelangt, eine Wirkung von Exkreten vortäuschen oder sie verändern kann, und legten deshalb Objektträger im Gewächshause aus. Nach vier Tagen wurden sie wie die Laubblätter eingeweicht (500 cm<sup>2</sup> einfach gemessene Fläche in 100 ml destilliertem Wasser). In dem erhaltenen Waschwasser keimten ebenso viele Konidien wie in destilliertem Wasser. Eine Wirkung des Staubes brauchte also nicht in Rechnung gestellt zu werden, und wir unterließen deshalb eine entsprechende zusätzliche Kontrolle.

### III. Untersuchungen und Ergebnisse

#### A. WIRKUNG VON BLATTEXKRETEN AUF DIE KEIMUNG VON PILZSPOREN

##### 1. Art der Beeinflussung

Wir beschreiben zunächst einen Vorversuch, der dazu dienen sollte, die Konzentrationsverhältnisse der BROWNSchen Untersuchungen zu reproduzieren.

Auf die Blätter einer im Gewächshaus gezogenen *Vicia faba* L. wurde eine dünne Schicht destillierten Wassers gesprüht und die Flüssigkeit nach einer Stunde wieder abgesaugt. Die so gewonnene Lösung sowie die Stufen einer Verdünnungsserie (Quotient 1 : 2) dienten als Keimmedien für Konidien von *Botrytis cinerea*. In der Anordnung für den zugehörigen Kontrollversuch ersetzten wir die Versuchspflanze durch eine Glasplatte.

Die in Abbildung 1 dargestellten Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Blattexkrete bei höherer Konzentration eine Hemmung, bei geringerer

eine Stimulation hervorrufen. In unseren von Laubblättern erhaltenen Lösungen scheint die wirksame Komponente höher konzentriert zu sein als in den Lösungen, die BROWN von Blütenblättern bekam. Die von ihm erzielten Daten würden etwa dem rechts vom Maximum gezeichneten Teil der Kurve entsprechen.

Absolute Zahlenwerte für Konzentrationen in den Waschwässern anzugeben, ist bei solchen und ähnlichen Versuchen allerdings nicht möglich, unter anderem deshalb nicht,

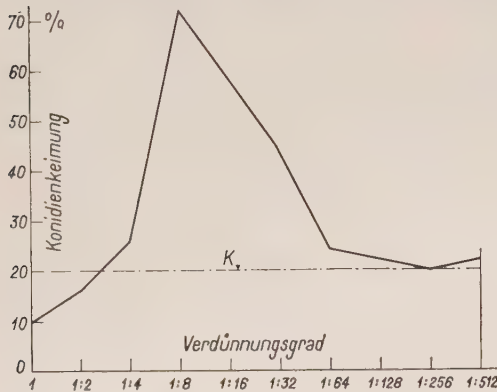


Abb. 1. Keimung der Konidien von *Botrytis cinerea* in Waschwasser von *Vicia faba*.  
(K = Kontrolle)

weil die Flüssigkeit auf den Blättern teilweise verdunstet. Dagegen erlaubt unsere im vorhergehenden Abschnitt beschriebene Methode eine gewisse Standardisierung.

Mit dem Waschwasser, das einer 0,1 mm dicken Schicht auf den Blättern entspricht, erhielten wir die in Tabelle 2 dargestellten Ergebnisse.

Die Keimung der Sporen von *Botrytis cinerea* war in allen Fällen deutlich gehemmt.

Tabelle 2

Einfluß der Blattexkrete (Waschwasser, 10:1 konzentriert) auf die Sporenkeimung verschiedener Testorganismen

Herkunft des Waschwassers	Prozente gekeimter Sporen von		
	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Ascochyta pisi</i>	<i>Puccinia triticina</i>
Weizen .....	1,25*	67,75	28,75
Rotklee .....	11,00*	58,00*	29,00
Pappel .....	35,25*	61,00*	30,00
Flieder .....	0,75*	79,50	22,00*
Paprika .....	0,50*	81,25	15,00*
Tomate .....	0,00*	77,50	22,75*
Zuckerrübe .....	0,25*	82,25*	18,25*
Kontrolle .....	97,75	71,50	33,50
Kleinste signifikante			
Differenz P = 5 %	17,32	10,47	8,22
P = 1 %	23,26	14,06	11,18
P = 0,1%	30,82	18,62	15,09

\* = statistisch gesicherte Differenz.

Es interessierte uns, nun ein Vergleich mit Waschwasser der ursprünglichen Konzentration (einer 1 mm dicken Schicht auf den Blättern entsprechend):



Tabelle 3

Einfluß der Blattexkrete (Waschwasser) auf die Sporenkeimung verschiedener Testorganismen

Herkunft des Waschwassers	Prozente gekeimter Sporen von		
	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Ascochyta pisi</i>	<i>Puccinia triticina</i>
Weizen .....	43,00	41,25*	30,75
Rotklee .....	67,50	49,25*	32,00
Pappel .....	63,50	27,00	33,75
Flieder .....	72,75*	35,75*	31,25
Paprika .....	23,25*	38,75*	29,25
Tomate .....	30,25	27,75	33,75
Zuckerrübe .....	58,75	32,00 <sup>c</sup>	27,75
Kontrolle .....	48,25	10,05	30,25
Kleinste signifikante Differenz P = 5 %	20,05	19,87	8,55
P = 1 %	26,93	20,69	11,63
P = 0,1%	35,68	35,36	15,70

\* = statistisch gesicherte Differenz.

Um die Ergebnisse gegenüberstellen zu können, müßten die den Zusammenstellungen zugrunde liegenden Versuche gleichzeitig ausgeführt worden sein. Das hätte aber eine Auszählung von 33 000 Sporen innerhalb kurzer Zeit erfordert, was technisch nicht möglich ist. Für eine Versuchsserie haben wir dies jedoch unternommen. Abbildung 2 zeigt die Ergebnisse.

Die beschriebenen Versuche bestätigen die Resultate unseres Vorversuches. Die Stoffe wirken in hoher Konzentration hemmend. Mit fortschreitender Verdünnung vermindert sich diese Hemmung. Sie verschwindet jedoch bei weiterer Abnahme der Konzentration nicht einfach, sondern geht zunächst in eine Stimulation über, die ein Maximum oder mehrere Gipfel durchläuft. Aus dem letzten Befund könnte man auf das Vorhandensein wenigstens zweier voneinander unabhängig wirkender Substanzen schließen. Die Schwankungen sind allerdings nicht genügend deutlich, um Versuchsfehler auszuschalten.

Die Stoffe müssen sehr aktiv sein; sie

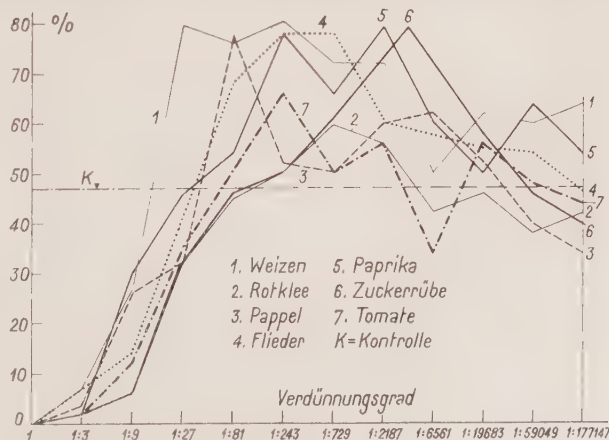


Abb. 2. Keimung der Konidien von *Botrytis cinerea* in Waschwässern von Blättern verschiedener Pflanzen (Verdünnungsgrad 1 = zehnfach konzentriertes Waschwasser)

wirken meist in der sechsten oder siebenten, oft aber auch noch in der achten Verdünnungsstufe stimulierend. Bei einer angenommenen Ausgangskonzentration der Stoffe um 0,2 % — sie dürfte noch geringer sein — würde die Konzentration in der achten Stufe weniger als  $10^{-4}$  % betragen.

## 2. Vergleich der Blattekrete verschiedener Pflanzen

Tabellen 2 und 3 erlauben, die Wirkung der Blattekrete verschiedener Pflanzen miteinander zu vergleichen. Die Sicherung der Differenzen zwischen den Pflanzenarten übertrifft in vielen Fällen  $P = 5$  %, in einigen sogar  $P = 0,1$  %. Aus diesen Tatsachen können wir jedoch nur eine vorläufige Folgerung über die Exkretionstätigkeit der Pflanzenarten ziehen, da die geprüften Pflanzen miteinander nicht zu vergleichen sind (unter verschiedenen Umweltbedingungen gewachsen, von verschiedenem Alter, verschiedener Blattstellung usw.). Wir wollten nur wissen, ob die keimungsregulierende Wirkung der Exkretion eine allgemeine Erscheinung in der Pflanzenwelt ist.

## 3. Empfindlichkeit verschiedener Testorganismen

Aus den Tabellen 2 und 3 geht hervor, daß die Keimung der Sporen von *Ascochyta pisi* in den Waschwässern aller Pflanzen gefördert, im Konzentrat (10:1) jedoch etwa gleich wie im destillierten Wasser war. Bei *Botrytis cinerea*-Konidien ist die negative Beeinflussung der Keimung im zehnfach konzentrierten Waschwasser besonders auffallend, wenn in der Ausgangslösung eine Stimulation erfolgte. Die Anteile gekeimter Sporen von *Puccinia triticina* wurden durch verschiedene Konzentrationen der Blattekrete nur in geringem Ausmaße verändert.

Die drei Testorganismen unterscheiden sich also deutlich in ihrer Reaktionsweise bzw. in ihrer Empfindlichkeit gegenüber den Blattekreten.

## B. ÜBER DIE NATUR DER WIRKSAMEN STOFFE

Für die Beeinflussung der Keimung von Pilzsporen können im Exkret verschiedene Faktoren verantwortlich sein. Von diesen wurden untersucht:

1. die anorganischen Substanzen
  - a) durch Bestimmen der elektrolytischen Leitfähigkeit,
  - b) durch Abtrennen der aethanol-löslichen Fraktion mit anschließendem Sporenkeimungstest;
2. die Wasserstoffionenkonzentration;
3. die leicht oxydierbaren organischen Substanzen.

### 1. Die anorganischen Substanzen

Im Exkret sind reichlich anorganische Substanzen vorhanden. Sie könnten positiv wirken — wie die Salze in einer Nährlösung — und (bei

zu starker Konzentration) als osmotisch aktive Stoffe die Wasseraufnahme bei der Sporenkeimung hemmen.

Als Verfahren zur Beurteilung der Salzkonzentrationen diente die Bestimmung der elektrolytischen Leitfähigkeit. Dazu benutzten wir die gleichen Lösungen wie zu den in Tabelle 3 dargestellten Versuchen. Die Ergebnisse sind aus der ersten Spalte der Tabelle 4 ersichtlich.

Tabelle 4

Chemische und physikalische Daten der Waschwässer  
verschiedener Pflanzen

Herkunft des Waschwässers	Spezifische elektrolytische Leitfähigkeit 10 <sup>-5</sup> . Ohm <sup>-1</sup>	Wasserstoff- ionenkonzentration pH	Menge der leichtoxydierbaren organischen Substanzen angegeben als ver- brauchte $\frac{n}{100}$ KMnO <sub>4</sub>
Weizen .....	1,03	6,56	7,6
Rotklee .....	1,03	6,62	10,8
Pappel .....	0,75	6,45	7,6
Flieder .....	0,83	6,53	7,7
Paprika .....	2,15	7,26	5,5
Tomate .....	2,68	6,93	30,6
Zuckerrübe .....	2,49	7,08	2,5
Kontrolle (dest. Wasser)	0,20	4,74	—
Kleinste signifikante Differenz P = 5 %	0,55	0,03	4,0
P = 1 %	0,77	0,04	5,5
P' = 0,1 %	1,04	0,05	7,4

Zwischen Leitfähigkeit und Aschengehalt besteht allerdings eine nur angenäherte Proportionalität. (Nicht allein Mengen, sondern auch Eigenschaften wie die Wanderungsgeschwindigkeiten von Ionen werden durch die Leitfähigkeit bestimmt.)

Immerhin lassen die Werte folgenden Schluß zu:

Die Keimung von *Botrytis cinerea*-Sporen wird noch in einer 20%igen Saccharoselösung im Vergleich zu destilliertem Wasser nicht gehemmt. Deshalb kann auch der viel geringere osmotische Druck der Blattexkrete nicht für die Hemmung der Keimung verantwortlich sein.

Um die Richtigkeit dieser Folgerung zu prüfen, führten wir Keimungsversuche in zwei Fraktionen des Exkretes durch. Dazu extrahierten wir die Rückstände von je 1 ml Waschwasser verschiedener Pflanzenarten mit je 5 ml 96%igem Aethanol eine Stunde lang, verdampften danach den Alkohol und nahmen beide Fraktionen — die aethanollösliche wie die aethanolunlösliche — in je 1 ml destilliertem Wasser auf (vier Parallelen). Die Keimung von *Ascochyta pisi*-Sporen wurde für beide Lösungen verglichen und in Tabelle 5 dargestellt.

Die elektrolytische Leitfähigkeit war in der aethanollöslichen Fraktion etwa gleich wie im destillierten Wasser; die Leitfähigkeit der unlöslichen



Fraktion entsprach annähernd der in der Ausgangslösung gemessenen. Trotzdem ist die Keimung gerade in der löslichen Fraktion stimuliert; der Befund deckt sich mit dem in Tabelle 3 (Spalte 2) dargestellten.

Beide Versuche beweisen demnach, daß die Keimung nicht durch die anorganischen Stoffe des Exkrets reguliert werden kann.

*Tabelle 5*  
Keimung von *Ascochyta-pisi*-Konidien in zwei Fraktionen  
des Waschwassers

Herkunft des Waschwassers	In Aethanol lösliche Fraktion	In Aethanol unlösliche Fraktion
	% $\pm$ m	% $\pm$ m
Weizen .....	29,3 $\pm$ 6,7	14,3 $\pm$ 4,1
Tomate .....	43,8 $\pm$ 7,9	6,3 $\pm$ 1,3
Zuckerrübe .....	46,3 $\pm$ 5,7	7,8 $\pm$ 3,1
Kontrolle (dest. Wasser)	11,3 $\pm$ 3,1	9,8 $\pm$ 4,5

## 2. Die Wasserstoffionenkonzentration

Ob die  $\text{cH}^+$  von Bedeutung für die Regulation der Sporenkeimung im Exkret sein kann, sollte durch Vergleich der mit einem Titriskop (Firma Metrohm A.G., Herisau, Schweiz) gemessenen pH-Werte entschieden werden.

Die Meßergebnisse sind in Tabelle 4 (zweite Spalte) enthalten.

Es fiel uns auf, daß die  $\text{cH}^+$  der Kontrolle in weiten Grenzen schwankte; m (der mittlere Fehler des Mittelwertes) beträgt hierfür  $\pm 0,46$  (= 9,8 %). Die Ursache dürfte in den aus dem Glas ausgewaschenen Ionen zu suchen sein.

Dagegen waren die pH-Werte der Waschwässer sehr ausgeglichen; m erreichte höchstens 0,07 pH-Einheiten (= 1 %). Daraus ergibt sich für P 5 % = 0,03, für P 1 % = 0,04 und für P 0,1 % = 0,05 pH-Einheiten, d. h. alle Unterschiede sind gesichert. Die Waschwässer müssen also gut gepuffert sein. Das wurde deutlich, als wir versuchten, Rübenwaschwasser (pH 7,08  $\pm$  0,061) auf pH 6,8 einzustellen. Zusatz eines gleichen Volumens Sörensen-Puffers (pH 6,8) veränderte die  $\text{cH}^+$  nicht.

Obwohl die Wasserstoffionenkonzentration für die einzelnen Pflanzenarten charakteristisch ist, kann auch sie nicht Ursache der Keimungsregulation sein, weil

- a) die Differenzen zwischen den Pflanzenarten zu gering sind,
- b) gar kein Zusammenhang zwischen  $\text{cH}^+$  und Keimung besteht (vgl. Tabellen 2 und 3 mit Tabelle 4, zweite Spalte),
- c) der Einfluß auf die Sporenkeimung vom Verdünnungsgrad der Waschwässer abhängt, der (wegen deren Puffereigenschaften) auf die  $\text{cH}^+$  kaum einen Einfluß ausüben dürfte.

### 3. Die leichtoxydierbaren organischen Substanzen<sup>1)</sup>

Die Resistenz von Baumwollsorten gegen *Xanthomonas malvacearum* (SUCHARUKOW, KLING und OWTSCHAROW, 1938) — ähnlich bei Weizen gegen Rost (KOKIN, 1948) — hängt von den im Exkret vorhandenen Mengen leichtoxydierbarer organischer Stoffe ab.

Es lag nahe, auch im Rahmen unserer Untersuchungen nach solchen Zusammenhängen zu suchen.

Die Menge der interessierenden Substanz läßt sich durch Redoxtitration bestimmen. Als Oxydationsmittel diente Permanganat. Je 10 ml Waschwasser werden mit 20 ml 0,01 n  $\text{KMnO}_4$  vereinigt, die Lösungen mit je 10 ml 10% iger  $\text{H}_2\text{SO}_4$  versetzt und danach bis zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen wird KJ-Lösung zugegeben und das ausgeschiedene Jod mit  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  zurücktitriert. Für die zugehörigen Nullproben benutzten wir je 10 ml destilliertes Wasser.

Eine im Waschwasser von Tomatenblättern vorhandene, leicht braune Färbung wird durch die Oxydation zerstört, und da die übrigen Waschwässer farblos sind, bereitet das Verfahren keine Schwierigkeiten. Wir benutzten von jedem Waschwasser (wie Tabelle 2) vier Proben. Die von uns varianzanalytisch beurteilten Resultate fügen wir der Tabelle 4 als dritte Spalte bei.

Da keine Korrelation zwischen diesen Werten und den Anteilen gekeimter Sporen (vgl. Tabelle 2) besteht, müssen auch die leichtoxydierbaren organischen Stoffe ohne Einfluß sein. Dieser Befund widerlegt nicht die mit anderen Objekten erzielten Ergebnisse der in der Einleitung zu dieser Arbeit erwähnten Autoren.

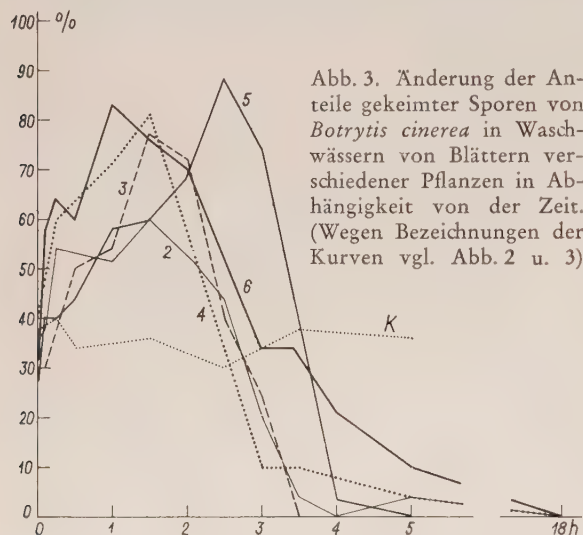
### C. ÜBER DEN ZEITLICHEN VERLAUF DER EXKRETION

Wir wollten den Verlauf der Auslösung anorganischer Substanzen mit dem der wirksamen Komponente vergleichen. Als Methoden benutzten wir die Messung der elektrolytischen Leitfähigkeit und den Sporenkeimungstest. Wir legten je 12 g unverletzte Blätter in 100 ml destilliertes Wasser. Von Versuchsbeginn an prüften wir in bestimmten Zeitintervallen mit jeweils 1 ml Lösung in Durham-Röhren auf Leitfähigkeit und Beeinflussung der Sporenkeimung, die letzte mit *Botrytis cinerea*.

Hierbei stellte sich heraus, daß bisweilen von den Blättern abgewaschene Protozoen sich vermehrt hatten und, wo viele vorhanden waren, die Sporenkeimung vollkommen unterbunden sein konnte. Da es nicht möglich ist, die Blattflächen zu sterilisieren, ließ sich durch die Versuche ein von Protozoen oder anderen Mikroorganismen eventuell ausgeübter Einfluß nicht ausschalten. Solche Bedenken veranlaßten uns, in dieser Versuchsserie die Waschwässer von Weizen und Tomate nicht zu benutzen.

<sup>1)</sup> Die Untersuchungen führte der Chemiker-Assistent unseres Institutes, Herr K. ZATSKO, aus, dem wir dafür bestens danken.

Die eingeweichten Blätter hielten sich über 24 Stunden lang turgeszent, auch wenn — wie bei Pappel und Flieder — die elektrolytische Leitfähigkeit im Waschwasser bedeutend zugenommen hatte.



Beim Betrachten der Abbildung 3 bemerkt man, daß zunächst die Keimungsraten für Waschwasser und Kontrolle übereinstimmen; nach einer bis drei Stunden ist die Keimung deutlich gefördert, und nach drei bis vier Stunden setzt die Hemmung ein. Die Kurven sind also annähernd Spiegelbilder der in Abbildung 2 dargestellten.

In den Kontrollen ist die Keimung — von kleinen Versuchsfehlern abgesehen — praktisch konstant geblieben.

Die zu beobachtende Zunahme der Leitfähigkeit bei der Kontrolle (Abb. 4) rührt vermutlich von anorganischen Substanzen her, die aus den Röhren gelöst wurden. Zur Überprüfung der Kontrollen ließen wir Sporen auch in anderen Gefäßen in destilliertem Wasser keimen und ermittelten in beiden Fällen 36 % Keimung: die aus den Durham-Röhren gelösten Stoffe beeinflussen also die Keimung nicht.

Ebenso wenig wirkten die aus den Blättern gelösten anorganischen Stoffe auf die Sporenkeimung. Im Waschwasser des Rotklees war vier Stunden nach Versuchsbeginn die spezifische Leitfähigkeit  $1,62 \cdot 10^{-5} \text{ Ohm}^{-1}$  und die Keimung 0 %; für Paprika sind die ent-

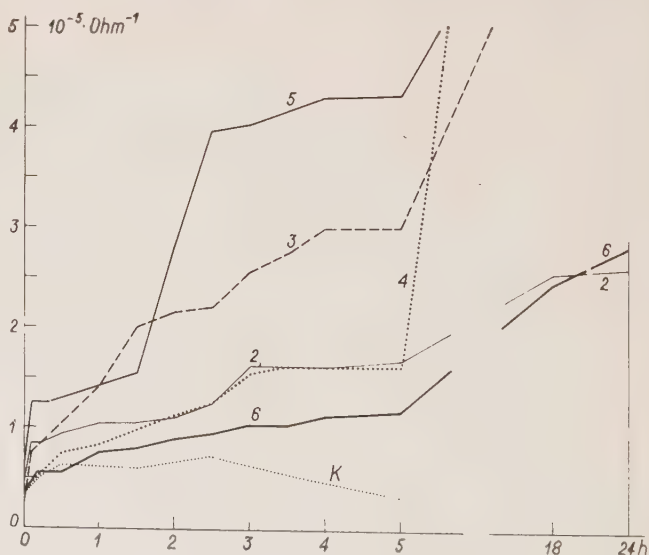


Abb. 4. Änderung der elektrolytischen Leitfähigkeit in Waschwässern von Blättern verschiedener Pflanzen in Abhängigkeit von der Zeit. (Die Bezeichnungen der Kurven entsprechen denen in Abb. 2)



sprechenden Wert  $3,92 \cdot 10^{-5} \text{ Ohm}^{-1}$  und 88 %, d. h. trotz weitaus mehr anorganischer Substanz war die höchste Keimungsrate erreicht. Nach längerem Einweichen hatte sich die Leitfähigkeit des Paprika-Waschwassers kaum (auf  $4,38 \cdot 10^{-5} \text{ Ohm}^{-1}$ ) erhöht, dagegen war die Sporenkeimung 0 % geworden.

Da nicht die Menge, sondern die Wirkung der aktiven Substanzen nachgewiesen wurde, kann der zeitliche Verlauf der Exkretion nur indirekt, durch Vergleich der Keimungskurven aus diesem Versuch mit jenen aus den Verdünnungsreihen (Abb. 2), beurteilt werden.

#### IV. Besprechung der Ergebnisse

Wir untersuchten die Sporenkeimung in Blattexkreten von sieben verschiedenen Pflanzen und konnten in allen Fällen eine Wirkung nachweisen; die Erscheinung gilt wahrscheinlich für alle höheren Pflanzen. Das Ausmaß der Exkretion hängt von der Pflanzenart ab; doch auch die Sporen verschiedener Pilze reagieren nicht einheitlich, was zu erwarten war. Die von der Wirtspflanze ausgehende Wirkung hat eine besondere phytopathologische Bedeutung für die erste Phase der Infektion: die Resistenz des Wirtes hängt zum Teil von der kutikulären Exkretion ab. Darin stimmen unsere Ergebnisse und Schlußfolgerungen mit denen anderer Autoren überein (BROWN, 1922; SUCHORUKOW, KLING und OWTSCHAROW, 1938; KOKIN, 1948), und auch eigene Resultate werden bestätigt (KOVÁCS, 1955).

Die Bedeutung der ausgeschiedenen Substanzen kann nicht mit einer bisweilen angenommenen Wirksamkeit als Nährstoffe (Nährstoff-Funktion) erklärt werden: im Bereich der Keimungshemmung beträgt die Konzentration an anorganischen Stoffen höchstens 1 %; andererseits ist eine Stimulation der Sporenkeimung noch in jenem Bereich deutlich festzustellen, in dem sich bestimmt weniger als  $10^{-4}$  % anorganische Substanz in der Lösung befindet. Die Nährstoff-Funktion kann auch schon deshalb nicht zur Erklärung dienen, weil die Sporen bei der Keimung ja gar keiner Nährstoffe bedürfen, sondern neben dem Wasser höchstens Wachstumsstoffe benötigen. Die Ernährung spielt erst beim Wachstum der Keimschläuche eine Rolle. — Gegen die Nährboden-Hypothese haben wir auch von phylogenetischen, entwicklungs-philosophischen Gesichtspunkten her Bedenken.

Aus den dargestellten Versuchen ist ersichtlich, daß für die Regulation der Sporenkeimung weder anorganische Stoffe noch die Wasserstoffionenkonzentration und auch nicht leicht oxydierbare organische Substanzen verantwortlich gemacht werden können. Der Effekt muß vielmehr durch andere, spezifische, hochaktive Substanzen ausgelöst werden. Zu dieser Hypothese führten uns auch die übrigen Untersuchungen, insbesondere die mit Verdünnungsreihen und über den zeitlichen Verlauf der Exkretion.

Die Ergebnisse veranlaßten uns andererseits, eine neuartige Betrachtungsweise bei der Beurteilung der Niederschlagsmenge im Hinblick auf Infektionen anzuwenden. Ein anhaltender Regen fördert die Ausbreitung

einer Epidemie nicht nur, weil er eine entsprechende Feuchtigkeit sichert, sondern auch wegen der Verdünnung der Blattekrete. Die Niederschläge müssen aber lange andauern, denn die aktiven Stoffe lösen sich nur mit relativ mäßiger Geschwindigkeit aus den Blättern; die Sporen keimen bei den mit einer solchen Witterung verbundenen niedrigen Temperaturen nur langsam. Während dieser Zeit könnten sich die aktiven Stoffe im Infektionstropfen wieder anreichern. Da die Konzentrationen maßgebend sind, müssen also Niederschlagsmenge, Temperatur, relative Luftfeuchtigkeit und andere Faktoren neben der Qualität der Exkrete und der Empfindlichkeit der Keime am Zustandekommen des Endeffektes beteiligt sein. Die Bedeutung des Taus für die Infektion würde sich in folgender Weise darstellen. Die Mengen an Lösungsmittel und an aktiven Substanzen steigen zuerst an; später nimmt beim Verdampfen des Lösungsmittels die Konzentration zu. Die Temperatur, die zunächst niedrig ist, wirkt negativ auf die Keimung zu dem Zeitpunkte, da die Auslösung der aktiven Stoffe beginnt; es wird aber auch die Verdampfung gefördert, so daß die Konzentration jene Höhe erreichen kann, die eine hemmende Wirkung bedingt.

Diese Folgerungen sowie die Bedeutung der Exkretion in der Natur müßten durch Freilandversuche überprüft werden. Auch der chemische Charakter der aktiven Substanzen bleibt noch zu definieren.

### Zusammenfassung

Mit Blättern von sieben verschiedenen Pflanzen und Sporen von drei Pilzen als Testorganismen wurde die Wirkung der kutikulären Exkretion (Exosmose) untersucht.

Es wird nachgewiesen, daß die Blattekrete der einzelnen Pflanzenarten unterschiedlich aktiv und auch die Testorganismen dagegen verschieden empfindlich sind. Sporen von *Botrytis cinerea* reagieren am empfindlichsten, solche von *Puccinia triticina* werden nur wenig beeinflusst.

Spezifische elektrolytische Leitfähigkeit, Wasserstoffionenkonzentration und Menge der leicht oxydierbaren organischen Stoffe sind für jede Pflanzenart charakteristisch. Diese Unterschiede sind — wie auch die gegenüber der Kontrolle (dest. Wasser) — in den meisten Fällen statistisch gesichert; sie können aber nicht zur Erklärung des von den Exkreten auf die Sporenkeimung ausgeübten Einflusses dienen.

Für alle Blattekrete konnte sowohl eine hemmende als auch eine stimulierende Wirkung nachgewiesen werden. Die Art des Einflusses hängt von der Konzentration der Exkrete und von der Empfindlichkeit des Testorganismus ab. Diese Beziehungen werden in Kurven und Tabellen dargestellt.

Die keimungsregulierenden Substanzen sind sehr aktiv. Sie werden langsamer als die anorganischen Stoffe aus den Blättern gelöst. Immerhin könnten unter normalen Verhältnissen auf den Blättern befindliche Reste

von Tau- oder Regentropfen aktive Substanzen in Konzentrationen enthalten, die genügen, um eine Keimung der Konidien von *Botrytis cinerea* zu hemmen.

Herrn Dr. E. MÜLLER (Institut für spezielle Botanik der Eidgenössischen Technischen Hochschule, Zürich), der uns bei der Zusammenstellung und sprachlichen Überarbeitung des Textes weitestgehende Hilfe leistete, sind wir zu größtem Dank verpflichtet.

### Literaturverzeichnis

- ARENS, K., 1929: Physiologische Untersuchungen an *Plasmopara viticola*, unter besonderer Berücksichtigung der Infektionsbedingungen. Jb. wiss. Bot. 70, 93—157.
- —, 1934: Die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. Jb. wiss. Bot. 80, 248—300.
- BROWN, W., 1916: Studies in the Physiology of Parasitism. III. On the Relation between the "Infektion Drop"-and the underlying Host Tissue. Ann. Bot. 30, 399—406.
- —, 1922: On the Exosmosis of Nutrient Substances from the Host Tissue into the Infektion Drop. Ann. Bot. 36, 101—119.
- EPERJESSY, GY., 1941: A levél ásványi anyag kiválasztása („kutikuláris exkréció“) tultrágyázáskor. Mezőgazd. Kutatások. 14, 37—47.
- —, 1944: Tenyészedénykísérletek a növényi levél ásványi anyag kiválasztásának meghatározására. Mezőgazd. Kutatások. 17, 41—50.
- GÄUMANN, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl., Verlag Birkhäuser, Basel.
- KOKIN, A. J., 1948: Fiziologitscheskie i anatomitscheskie issledowanja balnowo rastjenja. Gosizdat Karelo-Finskoi SSR. Petrosawodsk.
- KOVÁCS, A., 1955: Über die Ursachen der unterschiedlichen Resistenz der Zuckerrübensorten gegen *Cercospora beticola* Sacc. Phytopath. Z. 24, 283—298.
- LAUSBERG, TH., 1935: Quantitative Untersuchungen über die kutikuläre Exkretion des Laubblattes. Jb. wiss. Bot. 81, 768—806.
- PFEIFFER, TH., RIPPPEL, A. und PFOTENHAUER, C., 1921: J. Landw. 69, 137.
- SAUSSURE, TH., 1804: Recherches chimiques sur la végétation. Übersetzt von VOIGT, F. S., Leipzig, 1805. Zit. nach ARENS 1929.
- SUCHORUKOW, K., 1952: Fiziologia immuniteta rastjenij. Verlag der Akad. d. Wissenschaften der UdSSR., Moskau 1—147.
- —, KLING, J. und OWTSCHAROW, K., 1938: Berichte der Akad. d. Wissenschaften d. UdSSR. 18, Nr. 8, 507.



## Besprechungen

**Gäbler, H.**, Tiere an Pappel. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg (Lutherstadt) 1955. 42 S., 38 Abb. (Neue Brehm-Bücherei, Heft 160.)

In dem vorliegenden Bändchen der Neuen Brehm-Bücherei gibt der Verfasser einen kurzen Überblick über 128 Tierarten, die an den verschiedenen Pappelarten leben oder diese nur gelegentlich aufsuchen. Die systematische Aufzählung der Insekten, Milben, Vögel und Säugetiere enthält kurze Angaben über die verursachten Mißbildungen, Gallen, Minen oder Fraßbilder und wird durch Hinweise auf wirksame Bekämpfungsverfahren ergänzt. Doch sollte man bei der Mitteilung von Firmennamen auch stets die Wirkstoffgruppe angeben, die z. B. beim Ruscalin vermißt wird. Der stellenweise sehr kurzgefaßte Text wird durch zahlreiche Abbildungen vervollständigt, deren Reproduktion aber nicht allgemein geglückt ist. Zur schnellen Orientierung über die tierischen Schädlinge der Pappel wird das Büchlein dem Praktiker wie dem Phytopathologen gute Dienste leisten.

K. MAYER, Berlin-Dahlem

**Frickhinger, H. W.**, Leitfaden der Schädlingsbekämpfung. 3., völlig neu bearbeitete Aufl. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.b.H. Stuttgart. 1955. XVI, 505 S., 405 Abb., Gr. 8<sup>o</sup>. Ganzleinen DM 47,—.

Unter Beibehaltung der systematischen Einteilung des Stoffes sind in der neuen Auflage des Leitfadens zahlreiche Ergänzungen vorgenommen worden, mit denen neue Erkenntnisse bei den Pflanzenkrankheiten und den Schädlingen sowie neue Bekämpfungsmöglichkeiten nachgetragen sind. So ist an den Anfang des Buches ein von Dr. K. HEINZE verfaßter Abschnitt über Viruskrankheiten gestellt, in dessen 30 Seiten ein Überblick über die wichtigsten Viruskrankheiten der Pflanzen und der Insekten nach der Einteilung von F. O. HOLMES gegeben wird. Die sich anschließenden pilzparasitären Krankheiten sind in 75 Seiten behandelt. Der Abschnitt über tierische Schädlinge umfaßt jetzt 288 Seiten. Die Darstellung geht in diesen Abschnitten von einer kurzen Charakterisierung der systematischen Einheiten aus, nennt sodann die einzelnen Schädlinge und schildert ihre Biologie sowie das mit ihrem Auftreten verbundene Schadbild und schließt mit Hinweisen für die Bekämpfung. Im letzten Abschnitt mit 40 Seiten sind wieder einige besondere Maßnahmen des Pflanzenschutzes und der Schädlingsbekämpfung, z. B. Saatgutbeizung, Bodendesinfektion, Unkrautbekämpfung, Spritzung im Obstbau und Raumdurchgasungen geschildert. Ein Kapitel ist hier zur Erläuterung der Entwicklung und Wirkungsweise der synthetischen Kontaktinsektizide und der systemischen Insektizide eingeschaltet. Die Abbildungen im Text sind stark vermehrt. — Ein Verzeichnis der aufgenommenen Krankheitserreger und Schädlinge nach den Orten ihres Auftretens oder den geschädigten Wirten, eine Zusammenstellung des wichtigsten Schrifttums sowie Autoren- und Sachregister beschließen den Band.

Der Leitfaden bietet dem angesprochenen Leserkreis von Handel und Praxis und dem Studierenden eine Fülle von Stoff und wird mit der Form der Darbietung besonders den in der Systematik der Organismen Unterrichteten ansprechen. Die Fülle des Dargebotenen läßt Fleiß und Eifer des inzwischen verstorbenen Verfassers für sein Werk erkennen. Einer Fortsetzung dieses Werkes würde die Beschränkung der praktischen Hinweise für die Bekämpfungsmaßnahmen auf die gebräuchlichen Verfahren ohne zu weitgehende Nennung häufig wechselnder einzelner Erzeugnisse dienlich sein.

H. MÜLLER, Berlin-Dahlem

**Precht, H., Christophersen, J., Hensel, H., Temperatur und Leben.** Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1955. 514 S., 182 Abb., DM 78,—.

In dem vorliegenden Werk werden die wechselseitigen Beziehungen zwischen Temperatur und Lebewesen zum neuesten Stand zusammenfassend dargestellt. Verff. bringen unter Angabe von etwa 3000 Literaturstellen einen Überblick über den Stand der Forschung, wobei die Ergebnisse der Grundlagenforschung im Vordergrund stehen, außerdem aber auch die Probleme der Praxis mit berücksichtigt werden. Auf ein kurzes, von den Autoren verfaßtes Vorwort von allgemein informativem Charakter folgt ein sehr übersichtliches, straff gegliedertes Inhaltsverzeichnis. Der in erster Linie auf den wissenschaftlich arbeitenden Biologen abgestellte Inhalt zerfällt in drei Teile.

H. PRECHT behandelt im Teil I den Einfluß der Temperatur auf die poikilothermen Organismen — wechselwarme Tiere und Pflanzen —, ein Gebiet, das, wie in der Einleitung hervorgehoben wird, in praktischer und theoretischer Hinsicht eingehend untersucht ist. Die erste, große, zusammenfassende Darstellung von J. BĚLEHRÁDEK (1935) enthält 1300 Literaturangaben. Seit dieser Zeit dürfte nach Schätzung des Verf. sich die Zahl der Veröffentlichungen etwa verdoppelt haben. Verff. ist bei knappgehaltener Darstellung um eine umfassende Erörterung der grundlegenden Probleme bemüht. Besonderer Wert wird auf eine sorgfältige Einführung in die theoretischen Grundlagen gelegt. Es werden die physikalisch-chemischen Gesetzmäßigkeiten behandelt, der Einfluß der Temperatur auf physikalisch-chemische Prozesse und auf biologisch wichtige Stoffe dargestellt. Der Hauptabschnitt über den Einfluß der Temperatur auf Lebensprozesse, wobei sich nicht verändernde und sich verändernde Reaktionssysteme gesondert betrachtet werden, bewältigt auf 161 Seiten einen sehr umfangreichen Stoff, der eine Fülle von Problemen, die auch für den Phytopathologen von Wichtigkeit sind, berührt. Wir nennen als Stichworte: Kälteschäden, Unterkühlungen, Schäden beim Auftauen, Schäden im gefrorenen Zustand, Gefriertrocknung, Hitze- und Kälteresistenz, Parallelität zwischen Kälteresistenz und Widerstandsfähigkeit gegen Austrocknung, Kälte- und Hitzeadaptation, Bedeutung der Temperaturgrenzen für die Verbreitung der Organismen, Wirkungen extremer Temperaturen auf Ruhestadien, Bedeutung der Temperatur für die Induzierung von Ruhephasen, Keimstimmung, formative Wirkungen durch normale und extreme Temperaturen, Bedeutung des Temperaturfaktors für die Verbreitung der wechselwarmen Arten.

Der 150 Seiten starke II. Teil des Werkes aus der Feder von J. CHRISTOPHERSEN bringt eine gesonderte Darstellung des Temperatureinflusses auf die Mikroorganismen, womit der besonderen Bedeutung des Temperaturfaktors in der Mikrobiologie auch im Hinblick auf die Belange der Praxis Rechnung getragen wird. Die Darstellung gliedert sich in sieben Hauptabschnitte und behandelt die folgenden Themen: „Der Einfluß der Temperatur auf Wachstum und Vermehrung von Mikroorganismen“, „Der Einfluß der Temperatur auf die physiologischen Eigenschaften von Mikroorganismen“, „Die Hitzeabtötung von Mikroorganismen“, „Thermophile Organismen“, „Die Wirkung tiefer Temperaturen auf Mikroorganismen“, „Der Temperatureinfluß auf Bakteriensporen“, „Die Temperaturabhängigkeit von Giftwirkungen“. Verff. ist bemüht, auch auf die dringendsten Probleme

der Praxis einzugehen. So ist u. a. ein Sonderabschnitt der Pasteurisierung, ein weiterer der Kältebehandlung gewidmet.

Im III. Teil werden von H. HENSEL auf 136 Seiten die ganz andersartigen Verhältnisse bei den Homoiothermen, Mensch und warmblütige Tiere, erörtert.

Das Werk ist mit gutem Abbildungsmaterial ausgestattet, wodurch das Verständnis auch recht schwieriger Erörterungen erleichtert wird. Es schließt mit einem Namen- und Sachverzeichnis und einer Zusammenstellung der zitierten Organismen. Durch seine Reichhaltigkeit und die souveräne Beherrschung des gesamten Stoffes wird „Temperatur und Leben“ in gleicher Weise zur Belehrung wie auch als Handbuch und Nachschlagewerk dienen können.

R. SCHNEIDER, Berlin-Dahlem



# HANDBUCH DER PFLANZENZÜCHTUNG

Begründet von Prof. Dr. Dr. h. c. TH. ROEMER und Prof. Dr. W. RUDORF

2. Auflage in 6 Bänden

Unter Mitwirkung zahlreicher Wissenschaftler und in Gemeinschaft mit den Professoren  
Dr. H. K. HAYES, St. Paul/USA, und Dr. A. MÜNTZING, Lund/Schweden

herausgegeben von

Prof. Dr. H. KAPPERT  
Berlin

und Prof. Dr. W. RUDORF  
Köln-Vogelsang

I. Band  
**Grundlagen der Pflanzenzüchtung**

II. Band  
**Züchtung der Getreidearten**

III. Band  
**Züchtung von  
Knollen- und Wurzelfruchtarten**

IV. Band  
**Züchtung der Futterpflanzen**

V. Band  
**Züchtung der Sonderkulturen**  
(Ol-, Eiweiß-, Faser- und Gewürz-  
pflanzen sowie Drogen)

VI. Band  
**Züchtung von Obst,  
Gemüse, Reben und Forstpflanzen**

Gegenüber der ersten Auflage ist die Neuauflage dieses Standardwerkes für die landwirtschaftliche und gärtnerische Pflanzenzüchtung eine völlige Neuschöpfung, in der die letzten Forschungsergebnisse des In- und Auslandes verwertet wurden. Das Werk bietet eine hervorragende und jedem Züchter willkommene Synthese der in zahllosen verstreuten Abhandlungen und Darstellungen enthaltenen Einzelergebnisse.

Der internationale Charakter des reich illustrierten Werkes wird durch die Veröffentlichung der Beiträge in deutscher oder englischer Sprache hervorgehoben.

Das Werk erscheint seit Mitte 1955 in etwa monatlichen Lieferungen. Der I. Band wird Ende 1956 komplett vorliegen. Jede Lieferung umfaßt 5 Bogen à 16 Seiten. Ermäßigter Subskriptionspreis der Lieferung DM 13,50, der mit Ausgabe der letzten Lieferung erlischt. Es tritt dann ein neuer Preis in Kraft, der mindestens 10 % höher als der Subskriptionspreis sein wird. Einbanddecken gelangen am Schluß jedes Bandes zur Ausgabe und werden gesondert berechnet. Die Subskription verpflichtet zur Abnahme des Gesamtwerkes (etwa 38 Lieferungen).

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

# ZEITSCHRIFT FÜR ACKER- UND PFLANZENBAU

(früher Journal für Landwirtschaft)

Begründet 1853

Herausgegeben von

Prof. Dr. W. BROUWER und Prof. Dr. O. TORNAU  
Stuttgart-Hohenheim Göttingen

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. KLAPP, Bonn, Prof. Dr. K. OPITZ, Berlin

Die traditionsreiche Zeitschrift erscheint als zentrales Veröffentlichungsorgan der deutschen Institute für Acker- und Pflanzenbau. Darüber hinaus erfaßt sie in Originalarbeiten die gesamte wissenschaftliche Arbeit auf diesem Gebiet. Der Praxis ermöglicht sie einen sicheren Einblick in den derzeitigen Stand der Forschung. Die Zeitschrift ist besonders wertvoll für alle Institute, die sich mit den theoretischen und angewandten Fragen des Acker- und Pflanzenbaues zu beschäftigen haben, ferner für Forscher, Kulturtechniker, Pflanzenzüchter und Pflanzenärzte, Bodenkundler und Botaniker usw., die aus ihr für ihre wissenschaftlichen Forschungsarbeiten und ihre praktische Tätigkeit wertvolle Anregung schöpfen.

## Erscheinungsweise:

Jährlich 6—8 Hefte in zwangloser Folge, 4 Hefte bilden einen Band, jedes Heft umfaßt etwa 8 Druckbogen. Bezugspreis: je Druckbogen (16 Seiten) etwa DM 3,50. Die Hefte werden einzeln berechnet.

# ZEITSCHRIFT FÜR ANGEWANDTE ENTOMOLOGIE

zugleich Organ der „Deutschen Gesellschaft für angewandte Entomologie e. V.“

Begründet 1914 von Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. K. ESCHERICH

Herausgegeben von Prof. Dr. W. ZWÖLFER, München

Die Zeitschrift ist das führende wissenschaftliche Organ der angewandten Entomologie und als solches der Mittelpunkt für die gesamten wissenschaftlichen Forschungen und Interessenten auf diesem Gebiet. Sie veröffentlicht Originalberichte in deutscher, englischer und französischer Sprache, Einzel- und Sammelreferate, Auslandsberichte und bringt die Besprechung der wichtigsten internationalen Fachliteratur.

## Erscheinungsweise:

Jährlich etwa 6—8 Hefte, der Band zu 4 Heften in zwangloser Folge. Das Heft umfaßt 7 bis 8 Druckbogen. Bezugspreis: je Druckbogen (16 Seiten) etwa DM 3,—. Die Hefte werden einzeln berechnet.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag: Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47, Tel. 61 44 68/69. Herausgeber: Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. Richter, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Straße 19. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe vorbehalten. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 10—12 Hefte (4 Hefte = 1 Band).